

**Erprobung mikrobiologischer und zoologischer (Öko-)Toxizitätstests für  
UTD-relevante Abfalleluate**

Von der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer  
Doktorin der Naturwissenschaften  
(Dr.rer.nat.)

genehmigte  
D i s s e r t a t i o n

von Gritta Schrader  
aus Norden

1. Referent: Prof. Dr. Otto Larink
2. Referent: Prof. Dr. Dr. M. Bahadir

eingereicht am: 02. Juli 1998

mündliche Prüfung (Disputation) am: 18. September 1998

## Danksagung

Allen, die zur Durchführung dieser Arbeit beitrugen, möchte ich für ihre direkte oder indirekte Unterstützung danken. Insbesondere gilt mein Dank

Herrn Prof. Dr. Otto Larink für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, die wissenschaftliche Unterstützung und die Übernahme des Referates,

Herrn Prof. Dr. Dr. Müfit Bahadır für die Themenstellung, die 'Heranführung an die Ökologische Chemie', die wissenschaftliche Unterstützung und die Übernahme des Korreferates,

Herrn Mathias Wundram für die ständige Diskussionsbereitschaft, die angenehme und erfolgreiche Zusammenarbeit und die Durchsicht des Manuskriptes,

Herrn Marc Müller für die Überlassung der Analysedaten und die zahlreichen Literaturhinweise,

den Kolleginnen und Kollegen im Zoologischen Institut, Abteilung Bodenzologie und im Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik für tatkräftige Unterstützung im Labor und bei der Bürokratie, insbesondere Frau Meike Kondermann, Frau Ursula Friedrich, Frau Elfi Quattrociochi, Herrn Jürgen Hamann und Herrn Bernd Rother,

Herrn Dr. Hartmut Kula und Frau Carola Behrend von der BBA Braunschweig für die Überlassung einer *Eisenia*-Zucht und des LUFA 2.2 Bodens, verbunden mit wertvollen Hinweisen,

Frau Barbara Hauser, Frau Bettina Meißner und Herrn Dr. Kai Metge für die erfolgreiche Zusammenarbeit, Frau Hauser insbesondere für die Überlassung einiger MUTATOX™-Daten.

Herrn Dr. Thomas Brasser von der GRS Braunschweig und seinen Mitarbeitern für die fachliche Unterstützung im Bereich Ablagerung in Untertagedeponien und die Zurverfügungstellung der Salzlaugen und Abfalleluate. In diesem Rahmen sei auch allen Projektteilnehmern gedankt, die zum Gelingen der Arbeit beitrugen.

Meinem Mann Stefan für die Durchsicht des Manuskripts, seine Geduld und sein Verständnis während der Zeit des Zusammenschreibens und die zahlreichen Aufmunterungen,

Meinen Eltern und meinem Bruder für die stets gewährte Unterstützung.

## **Vorabveröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät, vertreten durch den Mentor der Arbeit, Prof. Dr. Otto Larink, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### **Publikationen**

- Brasser, Th., Bahadir, M., Schramm, K.-W., Beck, B., Behechti, A., Fischer, K., Kettrup, A., Larink, O., Mühlenweg, U., Müller, M., Noll, H., Schrader, G., Selmar, D., Thumm, W., Wundram, M. (1998): Erprobung und Anpassung ökotoxikologischer Methoden zur Bewertung UTD-relevanter Abfall-Eluate. GRS-Bericht, Köln (im Druck).
- Hauser, B., Schrader, G., Bahadir, M. (1997): Comparison of acute toxicity and genotoxic concentrations of single compounds and waste elutriates using the MICROTOX™/MUTATOX™ test system. Ecotoxicology and Environmental Safety 38: 227 – 231.
- Schrader, G., Metge, K., Bahadir, M. (1998): Importance of salt ions in ecotoxicological tests with soil arthropods. Applied Soil Ecology 7: 189 – 193.
- Wundram, M., Selmar, D., Wilken, G., Larink, O., Müller, M., Bahadir, M. (1996): Ökotoxikologische Bewertung von Deponiesickerwässern und Abfalleluaten. Entsorgungspraxis 7/8: 62 – 66.

### **Tagungsbeiträge**

12. International Colloquium on Soil Zoology  
21. – 26. Juli 1996 in Dublin, Irland:  
Wilken, G., Metge, K., Bahadir, M.: Importance of salinity effects in ecotoxicological tests with soil arthropods.
2. Deutsche SETAC-Tagung  
April 1997 in Aachen:  
Wilken, G., Larink, O., Bahadir, M.: Der Einfluß des LUFA 2.2 Bodens auf die Leuchtbakterientoxizität ausgewählter Abfalleluate.
26. GDCh-Hauptversammlung und 100-Jahrfeier der GÖCH  
07. – 11. September 1997 in Wien, Österreich:  
Schrader, G., Müller, M., Bahadir, M.: Analytical and toxicological observations of a hazardous waste elutriate after contact with a standard soil.
- Jahrestagung der GDCh, Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie  
03. – 04. November 1997 in Heidelberg:  
Wundram, M., Schrader, G., Müller, M., Bahadir, M.: Analytik und ökotoxikologisches Verhalten von Rückständen aus Abfallverbrennungsanlagen.

# Erprobung mikrobiologischer und zoologischer (Öko-)Toxizitätstests für UTD-relevante Abfalleluate

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	I
<b>Glossar</b> .....	II
<b>Systematisches Register</b> .....	V
<b>1. Einleitung</b> .....	1
<b>1.1 Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit</b> .....	2
<b>1.2 (Öko-)Toxizitätstests</b> .....	4
<b>2. Material und Methoden</b> .....	8
<b>2.1 Probenmaterial</b> .....	8
<b>2.1.1 Herstellung der Abfalleluate</b> .....	9
2.1.1.1 Elutionsmittel .....	9
2.1.1.2 Kaskadenelution der Abfälle .....	11
2.1.1.3 Dotierte Proben .....	11
<b>2.1.2 Behandlung der Abfalleluate für Sorptionsversuche</b> .....	13
2.1.2.1 Bodensorptionsversuche .....	13
2.1.2.1.1 LUFA 2.2 Boden .....	13
2.1.2.1.2 Bodenbehandlung .....	14
2.1.2.1.3 Boden-Kaskadenbehandlung .....	14
2.1.2.2 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Tonmineralen .....	15
<b>2.1.3 pH-Werte und Färbung der Eluate</b> .....	16
<b>2.2 (Öko-)Toxizitätstests</b> .....	17
<b>2.2.1 Leuchtbakterientest MICROTOX™</b> .....	17
2.2.1.1 Testprinzip .....	17
2.2.1.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte .....	17
2.2.1.3 Testdurchführung .....	19
<b>2.2.2 Gentoxizitätstest MUTATOX™</b> .....	21
2.2.2.1 Testprinzip .....	21
2.2.2.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte .....	21
2.2.2.3 Testdurchführung .....	21

<b>2.2.3 Hemmtest nach OFFHAUS (Sapromat-Versuche)</b> .....	23
2.2.3.1 Testprinzip .....	23
2.2.3.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte.....	23
2.2.3.3 Testdurchführung .....	24
<b>2.2.4 Sorptionsversuche</b> .....	24
<b>2.2.5 Regenwurmtests mit <i>Eisenia fetida</i>, <i>Lumbricus terrestris</i> und <i>Lumbricus rubellus</i></b> .....	26
2.2.5.1 Testprinzip .....	26
2.2.5.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte.....	26
2.2.5.3 Testdurchführung .....	27
<b>2.2.6 Collembolentest mit <i>Folsomia candida</i> und <i>Sinella coeca</i></b> .....	28
2.2.6.1 Testprinzip .....	28
2.2.6.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte.....	28
2.2.6.3 Testdurchführung .....	29
<b>2.2.7 Versuche mit <i>Folsomia candida</i> und verschiedenen Salzen</b> .....	32
<b>2.2.8 Kontakt-Papier-Test mit Collembolen</b> .....	32
<b>2.2.9 Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität mit 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid</b> .....	33
2.2.9.1 Testprinzip .....	33
2.2.9.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte.....	33
2.2.9.3 Testdurchführung .....	34
<b>2.2.10 Weitere Tests</b> .....	34
2.2.10.1 Tests mit <i>Artemia salina</i> .....	34
2.2.10.2 Tests mit <i>Isotoma viridis</i> .....	35
 <b>3. Ergebnisse</b> .....	 36
 <b>3.1 Leuchtbakterientest MICROTOX™</b> .....	 36
<b>3.2 Gentoxizitätstest MUTATOX™</b> .....	39
<b>3.3 Hemmtest nach OFFHAUS (Sapromatversuche)</b> .....	41
<b>3.4 Sorptionsversuche</b> .....	43
<b>3.4.1 MICROTOX™-Test</b> .....	43
3.4.1.1 Bodenbehandlung .....	43
3.4.1.2 Kaskadenbehandlung .....	43
3.4.1.3 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Bentonit .....	46

<b>3.4.2 MUTATOX™-Test</b>	48
3.4.2.1 Bodenbehandlung	48
3.4.2.2 Kaskadenbehandlung	48
<b>3.4.3 Hemmtest nach OFFHAUS</b>	49
3.4.3.1 Bodenbehandlung	49
3.4.3.2 Kaskadenbehandlung	51
3.4.3.3 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Tonmineralen	52
<b>3.5 Regenwurmtests mit <i>Eisenia fetida</i>, <i>Lumbricus terrestris</i> und <i>Lumbricus rubellus</i></b>	55
<b>3.6 Versuche mit <i>Folsomia candida</i> und <i>Sinella coeca</i></b>	56
3.6.1 Tests mit <i>Folsomia candida</i>	56
3.6.2 Tests mit <i>Sinella coeca</i>	60
<b>3.7 Collembolentests mit <i>Folsomia candida</i> und verschiedenen Salzen</b>	61
<b>3.8 Kontakt-Papier-Test mit Collembolen</b>	65
<b>3.9 Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität (DHA) mit 2,3,5-Triphenyltetrazolium-chlorid</b>	65
<b>3.10 Tests mit <i>Artemia salina</i></b>	67
<b>3.11 Tests mit <i>Isotoma viridis</i></b>	67
<b>3.12 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse</b>	67
<b>4. Diskussion</b>	70
<b>4.1 Wirkung von Schwermetallen</b>	70
<b>4.2 Aufnahme von Schadstoffen in Organismen</b>	73
<b>4.3 Beurteilung der Auswahlkriterien, Empfindlichkeit der Tests und Eignung für UTD-relevante Abfalleluate</b>	74
4.3.1 MICROTOX™-Test	75
4.3.2 MUTATOX™-Test	78
4.3.3 Hemmtest nach OFFHAUS	79
4.3.4 Regenwurmtest	81
4.3.5 Collembolentest	83
4.3.6 Versuche mit <i>Folsomia candida</i> und verschiedenen Salzen	85
4.3.7 Kontakt-Papier-Test mit Collembolen	86
4.3.8 Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität und Diskussion mikrobiologischer Bodentests im allgemeinen	86
4.3.9 Tests mit <i>Artemia salina</i> und <i>Isotoma viridis</i>	88

<b>4.4 Interpretation der Ergebnisse aus den Ökotoxizitätstests unter</b>	
<b>Betrachtung der chemischen Analyse der Abfalleluate</b>	89
4.4.1 CA 205 Feste Pyrolyserückstände	89
4.4.2 CA 204 Eisen(II)sulfat (Grünsalz)	93
4.4.3 CA 202 E-Filterstaub Sonderabfallverbrennung	94
4.4.4 CA 158 Filterstaub Steinkohlekraftwerk	95
4.4.5 CA 157 Filterstaub Braunkohlekraftwerk	96
4.4.6 CA 156 Gasreinigungsmasse (Leitung außer Betrieb)	96
4.4.7 CA 155 Gasreinigungsmasse (Leitung in Betrieb)	97
4.4.8 CA 153 Filterstäube aus Hausmüllverbrennung	98
4.4.9 CA 151 Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung	100
4.4.10 CA 150 Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung	100
4.4.11 IP21 dot. (nach REICHEL et al. 1995, dotierte IP21-Lauge)	101
4.4.12 Q-Lauge Beienrode (Original Q-Lauge, dotiert nach Dr. T. Brasser)	101
4.4.13 Schlußfolgerungen zur Interpretation der Testergebnisse	102
4.4.14 Zusammenfassende Darstellung im Hinblick auf die verschiedenen Elutionsmittel	103
<b>4.5 Sorption und Bioverfügbarkeit von Schadstoffen</b>	103
4.5.1 Schadstoffe im Boden (mit besonderer Betrachtung der Schwermetalle)	103
4.5.2 Komplexbildung	105
4.5.3 Bindungsformen von Schwermetallen mit Bodenbestandteilen	107
4.5.4 Bodenbehandlung	108
4.5.5 Kaskadenbehandlung	112
4.5.6 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Tonmineralen	115
<b>4.6 Übertragbarkeit von Laborversuchen auf Freilandbedingungen</b>	116
<b>4.7 Konsequenzen für die Lagerung der den Eluaten</b>	
<b>zugrundeliegenden Abfälle</b>	117
<b>4.8 Ausblick</b>	120
<b>5. Zusammenfassung</b>	121
<b>6. Literatur</b>	123
<b>7. Anhang</b>	135



## Abkürzungsverzeichnis

AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BSB	Biochemischer Sauerstoffbedarf
CA	Chemischer Abfall
CAS	Chemical Abstracts Service Registration Number
DHA	Dehydrogenase-Aktivität
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EC	Effective Concentration
FMNH <sub>2</sub>	Flavinmononukleotid, reduzierte Form
GRS	Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit
LUFA	Landesuntersuchungs- und Forschungsanstalt (Speyer)
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamid-adenin-dinukleotid
NADP	Nicotinamid-adenin-dinukleotid-Phosphat
OAS	Osmotische Anpassungslösung
PAK	Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe
PCB	Polychlorierte Biphenyle
TS	Trockensubstanz
TTC	Triphenyltetrazoliumchlorid
TPF	Triphenyltetrazoliumformazan
UTD	Untertagedeponie
WHK	Wasserhaltekapazität

## Glossar

<b>Abdomen</b>	Hinterleib
<b>Additive Wirkung</b>	Summation von Einzelwirkungen, zu unterscheiden von synergistischen und antagonistischen Wirkungen
<b>adult</b>	erwachsen, geschlechtsreif
<b>aerob</b>	sauerstoffbedürftig, Atmung unter Mitwirkung von molekularem Sauerstoff
<b>anaerob</b>	ohne Sauerstoff lebensfähig
<b>anözisch</b>	tiefgrabende Lebensweise bestimmter Regenwürmer
<b>Antagonismus</b>	entgegengesetzte und dabei sich gegenseitig abschwächende Wirkung zweier oder mehrere Substanzen
<b>apterygot</b>	flügellos
<b>artificial soil</b>	künstlicher Boden, hergestellt aus Sphagnum-Torf, Kaolin, Quarzsand, Calciumcarbonat
<b>Bioakkumulation</b>	Anreicherung von Chemikalien in einem Organismus durch direkte Aufnahme aus dem umgebenden Medium und über die Nahrung
<b>Biokonzentration</b>	Anreicherung von Chemikalien in einem Organismus durch direkte Aufnahme aus dem umgebenden Medium, ohne Berücksichtigung der Aufnahme über die Nahrung
<b>Biosphäre</b>	Gesamtheit der von Organismen besiedelten Teile der Erde
<b>Biota</b>	die Gesamtheit der lebenden Organismen
<b>carnivor</b>	fleischfressend
<b>Clitellum</b>	drüsiger, geschwollener Gürtel bei adulten Regenwürmern, relevant bei der Paarung und bei der Sezernierung der Kokons
<b>Collembolen</b>	Springschwänze; in der Regel im Boden lebende flügellose Insekten
<b>Cuticula</b>	von Epithelien (Körperaußen- oder –innenflächen begrenzende Zellagen) sezernierte azelluläre Deckschicht
<b>Destruenten</b>	Mikroorganismen, die Bestandsabfall abbauen und dabei organische Verbindungen in anorganische überführen (Mineralisation)
<b>EC<sub>50</sub></b>	Konzentration, bei der 50% der Testorganismen einen bestimmten Effekt zeigen
<b>Endocytose</b>	Aufnahme von Stoffen aus der äußeren Umgebung in eine Zelle durch Einstülpfen der Zellmembran und anschließendes Abschnüren von Vesikeln nach innen
<b>Endpunkt</b>	Prüfparameter, Kriterium, das zur Bewertung der Toxizität herangezogen wird, z. B. EC-Werte, Reproduktionsrate

<b>epigäisch</b>	in Bodennähe
<b>euedaphisch</b>	in Bodennähe lebend
<b>Eutrophie</b>	sehr hoher Gehalt von Nährstoffen
<b>Exposition</b>	Das Ausgesetztsein von Organismen und Materialien gegenüber Stoffmengen in einer bestimmten Zeiteinheit.
<b>fakultativ</b>	die Möglichkeit habend, unter verschiedenen Bedingungen leben zu können (z. B. aerob und anaerob)
<b>fungivor</b>	pilzfressend
<b>Gram-negativ</b>	Bakterien, die einen bei der Färbung nach GRAM absorbierten Anilinfarbstoff nicht in der äußersten Wandschicht an den Protein-Magnesium-Komplex binden (im Gegensatz zu den Gram-positiven Bakterien). Sie weisen einen komplizierteren Zellwandbau auf als die Gram-positiven Bakterien.
<b>halophil</b>	salzliebend
<b>hydrophob</b>	wasserabstoßend
<b>Inkubation</b>	Bebrütung; Hältern von Organismen bei optimalen Temperaturbedingungen
<b>Integument</b>	Körperhülle, äußere Körperbegrenzung
<b>kryophil</b>	kälteliebend
<b>limnisch</b>	im Süßwasser lebend
<b>lipophil</b>	fettliebend
<b>Litoral</b>	hier: Lebensraum des Meeres, der sich bis zu einer Tiefe von 200 m erstreckt und untergliedert ist in Supra- (wird nur von Spritzwasser oder Springtiden erreicht), Eu- (Bereich zwischen Niedrig- und Hochwasserlinie) und Sublitoral (dauernd wasserbedeckt)
<b>n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient</b>	Maß für die Polarität bzw. die Wasser- oder Fettlöslichkeit einer Chemikalie
<b>Ökotoxikologie</b>	untersucht schädliche Veränderungen von Strukturen und Funktionen von Ökosystemen, die durch Umweltchemikalien verursacht werden
<b>Parthenogenese</b>	Jungfernzeugung (Fortpflanzung ohne männliche Befruchtung)
<b>Polychaeten</b>	Vielborster, zu den Anneliden (Ringelwürmern) gehörende, fast ausschließlich marine Würmer
<b>salinar</b>	Salz..., im Salz(stock)
<b>Saprophagen</b>	Gesamtgruppe der bestandsabfallverzehrenden Organismen

<b>S9 Mix</b>	Im MUTATOX™-Test eingesetzte Enzymfraktion. Zur Herstellung von S9 Mix wird Rattenleberhomogenisat durch PCB-Gabe induziert. Der S9 Mix bewirkt eine enzymatische Aktivierung von Chemikalien (soweit möglich), wie z. B. die Epoxidierung von PAKs, welche erst durch diesen Prozeß ihre mutagene Wirkung entfalten.
<b>Synergismus</b>	gleichsinnige und dabei sich wechselseitig verstärkende Wirkung zweier oder mehrerer Substanzen
<b>transkutan</b>	durch die Haut hindurch
<b>Umweltchemikalien</b>	Stoffe, die durch menschliches Zutun in die Umwelt gebracht werden und dort in Mengen oder Konzentrationen auftreten können, die geeignet sind, Lebewesen, insbesondere den Menschen, zu gefährden. Hierzu gehören chemische Elemente oder Verbindungen organischer oder anorganischer Natur, synthetischen oder natürlichen Ursprungs. Das menschliche Zutun kann unmittelbar oder mittelbar erfolgen, es kann beabsichtigt oder unbeabsichtigt sein.
<b>Untertagedeponie</b>	Deponie zur unterirdischen Ablagerung chemisch-toxischer Abfälle, im Gegensatz zum ‚Endlager‘, in dem radioaktive Abfälle unterirdisch abgelagert werden. Einrichtung, Betrieb und Nachbetriebsphase einer UTD dürfen zu keiner Beeinträchtigung der Biosphäre führen.

## Systematisches Register

<i>Anurida maritima</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Artemia salina</i>	Salinenkrebs, Anostraca (Schalenlose) Crustacea (Krebse), Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Betula pubescens</i>	Birke, Betulaceae (Birkengewächse), Hamamelididae, Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige Bedecktsamer) Spermatophyta (Samenpflanzen)
<i>Ceratophysella denticulata</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Carpinus betulus</i>	Hainbuche, Carpinaceae (Hainbuchengewächse), Hamamelididae, Dicotyledoneae (Zweikeimblättrige Bedecktsamer) Spermatophyta (Samenpflanzen)
<i>Cryptomonas spec.</i>	Cryptomonadales, Cryptophyceae, Phycophyta (Algen)
<i>Dunaliella spec.</i>	Polyblepharidaceae, Volvocales, Chlorophyceae (Grünalgen), Phycophyta (Algen)
<i>Eisenia fetida</i> (vormals <i>foetida</i> )	Kompostwurm; Lumbricidae (Regenwürmer) Oligochaeta (Wenigborster), Annelida (Ringelwürmer)
<i>Folsomia candida</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Folsomia fimetaria</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Folsomia fimetarioides</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Isotoma viridis</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Isotomiella minor</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Lumbricus rubellus</i>	Blaukopfwurm, Lumbricidae (Regenwürmer) Oligochaeta (Wenigborster), Annelida (Ringelwürmer)
<i>Lumbricus terrestris</i>	Großer Tauwurm, Lumbricidae (Regenwürmer) Oligochaeta (Wenigborster), Annelida (Ringelwürmer)
<i>Orchesella cincta</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Panagrellus silusiae</i>	Nematoda (Rund- oder Fadenwürmer), Nemathelminthes (Schlauchwürmer)

<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Pseudomonaden, Stäbchenbakterien, gram-negativ, aerob
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Bierhefe, Saccharomycetaceae (eigentliche Hefen) Protoascomyceten
<i>Salmonella typhimurium</i>	Salmonelle, Enterobakterien, Stäbchen, gram-negativ, fakultativ anaerob
<i>Sinella coeca</i>	Collembola (Springschwänze), Insecta (Insekten) Arthropoda (Gliederfüßler)
<i>Sphaerotilus natans</i>	Abwasserpilz, filamentebildende Bakterien, gram-negativ
<i>Vibrio fischeri</i> (vormals <i>Photobacterium phosphoreum</i> )	Leuchtbakterium, Vibrionen (gekrümmte Stäbchen-Bakterien)
<i>Zoogloea spec.</i>	Pseudomonaden, Stäbchenbakterien, gram-negativ, aerob

CA-Nr.	Abfallart	Bezeichnung der Eluate
<b>205</b>	Feste Pyrolyserückstände	205-IP9
<b>204</b>	Eisen(II)sulfat (Grünsalz)	204-IP9, (204-IP21), 204-GW
<b>202</b>	E-Filterstaub aus Sonderabfallverbrennung	202-IP9, 202-IP21, 202-GW
<b>158</b>	Filterstaub aus Steinkohlekraftwerk	158-IP9, 158-IP21, 158-GW
<b>157</b>	Filterstaub aus Braunkohlekraftwerk	157-IP9, 157-IP21, 157-GW
<b>156</b>	Gasreinigungsmasse (Leitung außer Betrieb)	156-IP9, 156-GW
<b>155</b>	Gasreinigungsmasse (Leitung in Betrieb)	155-IP9, 155-IP21, 155-GW
<b>153</b>	Filterstäube aus Hausmüllverbrennung	153-IP9, 153-IP21, 153-GW
<b>151</b>	Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung	151-IP9, 151-IP21, 151-GW
<b>150</b>	Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung	150-IP9, 150-IP21, 150-GW
<b>IP21 dotiert</b>	synthetisch hergestellte Schadstofflösung	IP21 dot.
<b>Q-Lauge Beienrode</b>	halb-synthetisch hergestellte Schadstofflösung	Q-Lauge Beienrode

## 1. Einleitung

In unserer heutigen Industriegesellschaft, die von Konsum und Schnellebigkeit geprägt ist, werden Rest- und Abfallstoffe zu einer wachsenden Belastung. Die Abfallmengen werden laufend größer, ihre Beseitigung immer schwieriger und die von ihnen ausgehenden Gefahren von Tag zu Tag unüberschaubarer. Inzwischen beschäftigen sich ganze Industriezweige mit diesem Problem.

Verschiedenste Konzepte zur Vermeidung, Verringerung und Entsorgung von Abfall werden erwogen, erprobt und gesetzlich festgelegt (z. B. RAT DER EG 1975, BUNDESMINISTER FÜR UMWELT-, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT 1989, TA ABFALL 1991). Eine Möglichkeit zur Verringerung des Abfallvolumens ist die Müllverbrennung, die aber zu einer Akkumulation nicht brennbarer (z. B. Schwermetalle) oder neuentstandener (z. B. Dioxine, PAKs) Schadstoffe führt, deren Entsorgung ein erneutes Problem darstellt. Diese Schadstoffe finden sich in Form von Filterstäuben, Aschen und Schlacken in den Müllverbrennungsanlagen wieder. Ihre Ablagerung darf nicht in oberirdischen Mülldeponien erfolgen, da sie nach TA ABFALL (1991) nicht die Zuordnungskriterien für eine dortige Ablagerung (Tab. 1.1) erfüllen. Auch Schwermetallabfälle aus Industrie-Fertigungsanlagen und Filterstäube aus Kraftwerken fallen in diesen Bereich. Solche Abfälle müssen von der Biosphäre abgeschlossen und unterirdisch abgelagert werden.

**Tab. 1.1.** Auswahl einiger Zuordnungskriterien für die oberirdische Ablagerung von Abfällen (TA ABFALL 1991, cit. ex. MÜLLER 1996)

Parameter	Zuordnungswert
Adsorbierbare organische Halogene	$\leq 3$ mg/L im Eluat
Cyanide (leicht freisetzbar)	$\leq 0,1$ mg/L im Eluat
Extrahierbare lipophile Stoffe	$\leq 4\%$
Glühverlust der Trockensubstanz	$\leq 10\%$
Nitrit	$\leq 30$ mg/L im Eluat
Organischer Kohlenstoffgehalt	$\leq 200$ mg/L im Eluat
Wasserlöslicher Anteil	$\leq 10\%$

Zu diesem Zweck werden Salzstöcke nach beendetem Salzabbau als Untertagedeponien (UTD) genutzt. Salzstöcke sind grundsätzlich trocken, da sie keine Verbindung zum Grundwasser haben. Die chemisch-physikalischen Eigenschaften solcher Salzstöcke sollen einen



sicheren, wartungsfreien und langfristigen Abschluß der Abfälle von der Erdoberfläche und vom Grundwasser gewährleisten. Für einige Abfallarten kann auch eine Ablagerung in nicht-salinaren untertägigen Hohlräumen, wie z. B. aufgelassenen Steinkohlebergwerken oder Tongruben, in Betracht kommen. Da solche Bergwerke nach Beendigung des Gewinnungsbetriebes nicht mehr zur Trockenhaltung abgepumpt werden, kann sich hier jedoch ein natürlicher Grundwasserspiegel einstellen, der bei der Gefahrenabschätzung und Eignungsprüfung für die Verwendung der Hohlräume als UTD mit berücksichtigt werden muß.

Grundsätzlich gilt, daß Errichtung, Betrieb und Nachbetriebsphase solcher UTDs zu keiner Beeinträchtigung der Biosphäre führen dürfen.

### **1.1 Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit**

Bei der Beurteilung der Endlagersicherheit einer UTD, die auch im hohen Maße davon abhängt, ob der Salzstock langfristig trocken bleibt, wird ein sogenanntes 'worst case'-Szenario entworfen (s. dazu auch REICHELT et al. 1995, MÜLLER 1996, WUNDRAM 1996 und BRASSER et al. 1998), bei dem es durch geologische Verschiebungen oder Reaktionen des Abfallmaterials zu einer Verbindung mit dem Grundwasser oder mit flüssigkeitsgefüllten Hohlräumen und damit zu einem Wassereintritt in den Salzstock kommt. Eingedrungenes Wasser und Salzkrusten bilden eine gesättigte Salzlösung, die in Kontakt mit den Abfallbehältern gelangt und diese korrodiert oder zersetzt. Der eingelagerte Abfall kann dann von der Salzlösung eluiert werden, so daß ein mehr oder weniger toxisches Abfalleluat entsteht, das normalerweise jedoch aufgrund seiner hohen Dichte im Salzstock verbleibt.

Werden die Salzstockwände indes bei einem weiteren geologischen Ereignis von außen zusammengedrückt (Konvergenz), oder kommt es durch chemische Reaktionen im Abfall oder zwischen Abfällen und Salzlösung zu einem Überdruck, ist ein Eintritt des Eluats in die Biosphäre grundsätzlich möglich.

Modellierungen und Berechnungen zufolge (REICHELT et al. 1995), werden die Eluate bis zum Erreichen der Biosphäre mehr oder weniger stark verdünnt. Durch Kontakt mit dem umgebenden Substrat werden sie möglicherweise außerdem chemisch verändert.

Die so entstandenen Eluate stellen komplexe Gemische verschiedenster Inhaltstoffe in zum Teil sehr geringen Konzentrationen („Micropollutants“, LAMBOLEZ et al. 1994) dar, deren Analytik schwierig und aufwendig sein kann. Geringe TOC/CSB/BSB-Frachten, im allgemeinen geringe organische Schadstoffbelastungen, hohe Salzfrachten und häufig auch hohe Konzentrationen an löslichen toxischen Elementen in Aquo-, Hydroxo- und Chlorokomplexen sind charakteristisch für solche Eluate.

Die Wirkung der Schadstoffe in diesen Abfalleluaten kann synergistisch, additiv oder antagonistisch sein (z. B. BOIS et al. 1988, WARNE und HAWKER 1995, VAN GESTEL und

HENSBERGEN 1997). Die Vorhersage toxischer Effekte allein aufgrund der chemischen Analyse wird dadurch erschwert oder sogar verhindert. Für eine Beurteilung des Gefahrenpotentials, welches von derartigen Abfällen bzw. Abfalleluaten ausgehen kann, ist neben einer chemischen Analyse deshalb auch die Kenntnis der ökotoxikologischen Eigenschaften notwendig, um entscheiden zu können, in welcher Form die Abfälle die geringste Gefahr darstellen.

Im Vorfeld solcher Untersuchungen ist es sinnvoll, die Wege zum eigentlichen Wirkort (Ökotoxikokinetik) zu kennen oder zu erheben. Theoretische Untersuchungen dazu erfolgten bereits an anderer Stelle (REICHEL et al. 1995, BRASSER et al. 1998).

Die Eigenschaften der Umweltmedien variieren räumlich und zeitlich und erschweren damit eine Verallgemeinerung möglicher festgestellter Effekte. Exakte ‚Werte‘ sind nur für einen fixierten Ort zu einer fixierten Zeit zu ermitteln. Andererseits kann nicht die Wirkung von Eluaten jeder einzelnen Abfallcharge untersucht werden, da schon allein die Eluat-Herstellung ein sehr aufwendiges Verfahren bedeutet. Mit Hilfe ökotoxikologischer Tests soll daher in dieser Arbeit die Wirkung komplexer Abfalleluate für verschiedene Abfallgruppen ermittelt werden. Die daraus resultierenden Ergebnisse sollen in Verbindung mit den Analysenergebnissen Rückschlüsse auf die Toxizität solcher Abfallgruppen bzw. ähnlich zusammengesetzter Abfälle ermöglichen.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Erprobung und Anwendung (öko-)toxikologischer Untersuchungen auch im Hinblick auf Effekte, die bei einem Eindringen der Abfalleluate in die Biosphäre und einem damit verbundenen Kontakt mit dem umgebenden Boden hervorgerufen werden könnten. Natürliche Varianz der Bodeneigenschaften und vielfältige Beeinflussung durch abiotische und biotische Parameter mit ausgeprägter räumlicher Variation spielen hier eine große Rolle und sind in der hohen Komplexität und Heterogenität des Systems Boden begründet. Beispielhaft seien genannt Arten und Mengen der Tonmineralien, Partikelgröße, Porosität, Austauschkapazität, pH, Leitfähigkeit der Bodenlösung, Redoxpotential, Temperatur, Wasserhaushalt, Zusammensetzung und Menge der organischen Masse, biologische Aktivität, Biomasse (KORTE 1992).

Bisher wurden auf diesem Gebiet nur relativ wenige Untersuchungen durchgeführt, davon die meisten mit Sickerwässern übertägiger Mülldeponien und im allgemeinen ohne Berücksichtigung von Einflüssen der Bodenmatrix. Auch der Mutagenität solcher Schadstofflösungen wurde bisher nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Literaturbeispiele für Tests mit Tieren oder Mikroorganismen zeigt Tab. 1.2.

Zur Entstehung der in dieser Arbeit verwendeten Abfalleluate kommt es nur in einem ‚worst case‘, sie stehen also normalerweise nicht zur Verfügung. Um dennoch UTD-relevante Abfalleluate untersuchen zu können, wurden diese daher im Labor halb-synthetisch unter Simulation eines ‚worst case‘ hergestellt. Dazu wurden Original-Abfälle mit synthetisch er-

stellten Salzlauge bzw. einem Original-Grundwasser eluiert. Erstellung, chemisch-analytische und ökotoxikologische Untersuchungen sowie weitere Modellierungen fanden im Rahmen des FuE-Projektes ‚Erprobung und Anpassung ökotoxikologischer Methoden zur Bewertung UTD-relevanter Abfalleluate‘, Förderkennzeichen 02 C 0415 9, statt (BRASSER et al. 1998). Die Auswahl der Abfälle und die Methodik der Eluat-Erstellung basierten dabei auf dem vorangegangenen Projekt ‚Auswahl und Untersuchung UTD-relevanter Abfallarten‘ (REICHELT et al. 1995).

**Tab. 1.2.** Literaturbeispiele zur ökotoxikologischen Untersuchung von Sickerwässern und Abfalleluaten. Siehe dazu auch Kap. 6 (Literatur).

Themenbereich	Autoren und Jahr der Veröffentlichung
Deponie-Sickerwässer; Daphnientest	ATWATER et al. 1983
Eluate industrieller Feststoffe; Ames-(Mutagenitäts-)Test	BESSI et al. 1992
Deponie-Sickerwässer; Leuchtbakterientest	DEVARE und BAHADIR 1994
UTD-relevante Abfalleluate; Leuchtbakterien- und MUTATOX™-Test	HAUSER 1996
UTD-relevante Abfalleluate; aquatische Organismen; Daphnien- und Leuchtbakterientest	KAMPKE-THIEL et al. (1994)
Deponie-Sickerwässer; Leuchtbakterien-, Daphnien- und Ames-Test	LAMBOLEZ et al. 1994
Deponie-Sickerwässer; Mutagenitätstest	MEZZANOTTE et al. 1988, cit. ex LAMBOLEZ et al. 1994
Abfalleluate	NEUFELD und WALLACH 1984, cit. ex LAMBOLEZ et al. 1994
Deponie-Sickerwässer	PLOTKIN und RAM 1984, cit. ex LAMBOLEZ et al. 1994
Aschen aus Verbrennungsanlagen; Mutagenitätstest	SILKOWSKI 1992, cit. ex LAMBOLEZ et al. 1994
Industrieabfälle; Daphnientest	WALSH et al. 1982
Flüssig-Abfälle; Daphnientest	WALSH und GARNAS 1983

## 1.2 (Öko-)Toxizitätstests

Mit Hilfe geeigneter, möglichst einfacher Testansätze sollen biologische Funktionsabläufe unter dem Einfluß komplexer Schadstoffgemische in Form von Abfalleluaten untersucht werden.

Die Effekte, die komplexe Schadstoffgemische auf Organismen haben, hängen u. a. einerseits von der jeweiligen Expositionszeit und der Temperatur, andererseits von den Konzentrationen der Schadstoffkombinationen und dem pH-Wert ab (VERMEULEN 1995, VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997). Expositionszeit und Temperatur können im Test konstant gehalten werden, um eine Vergleichbarkeit verschiedener Testlösungen zu erreichen. Konzentrationen der Schadstoffkombinationen und pH-Werte hängen dagegen von den jeweiligen Testlösungen ab. Eine Vereinheitlichung ist bezüglich der Schadstoffe nicht möglich, bezüglich der pH-Werte nicht sinnvoll (s. Kap. 2.1.3). Auch können verschiedene Organismenarten sehr unterschiedlich auf die Testlösungen reagieren. Es ist daher notwendig, unterschiedliche Testorganismen zu verwenden und dabei unterschiedliche Funktionen, wie z. B. Stoffwechselvorgänge und –aktivität, Wachstum und Reproduktion einzubeziehen. CODINA et al. (1993) unterstreichen die Notwendigkeit, mehrere Tests für die biologische Bewertung von Schwermetall-Toxizität heranzuziehen. Sie fanden für Cadmium, Kupfer, Chrom, Quecksilber, Nickel und Zink unterschiedliche Empfindlichkeiten der von ihnen untersuchten Mikroorganismen (*Pseudomonas fluorescens*, *Saccharomyces cerevisiae* = Bierhefe, *Vibrio fischeri*). Bei Untersuchungen an Deponie-Sickerwässern fanden auch DEVARE und BAHADIR (1994) heraus, daß die Empfindlichkeit diverser Testorganismen für eine Umweltprobe durchaus unterschiedlich sein kann, und unterstreichen ebenfalls die Notwendigkeit, verschiedene Tests einzusetzen. DEBUS und HUND (1994) untersuchten Bodenextrakte. Auch sie erachten es für sinnvoll, mehrere Tests einzusetzen. Es folgt daraus, daß erst mit einer Auswahl verschiedener Toxizitätstests unter Einbeziehung ökosystemrelevanter Gesichtspunkte, wie z. B. unterschiedliche trophische Ebenen, die Möglichkeit besteht, Wirknachweise auf breiter Basis zu erbringen. Dabei spielt die Auswahl geeigneter Tests eine große Rolle.

Auswahlkriterien für die hier erprobten Ökotoxizitätstests sind neben einfacher Durchführbarkeit, ökonomischer Vertretbarkeit, Praxisnähe und Reproduzierbarkeit das Vorhandensein von Daten über die Testorganismen bezüglich ihrer Biologie und Ökologie. Die Organismen sollten leicht im Labor zu züchten sein, d. h. schnell, mit minimalem Aufwand und minimaler Fach- und Sachkunde. Sie sollten ganzjährig verfügbar, und ihre Empfindlichkeit gegenüber den zu testenden Chemikalien sollte typisch und repräsentativ sein. Extrem empfindliche Organismen haben nur begrenzten Nutzen. Zwar muß ein Organismus einerseits so empfindlich sein, daß er eine Kontamination anzeigt, andererseits aber auch so robust, daß er keinen falschen Alarm gibt (BROOKES 1995). Bei Hypersensibilität der Testorganismen können harmlose Parameter oder Randerscheinungen Schadstoffwirkungen vortäuschen. Sinnvoll ist es auch, wenn die Organismen aufgrund der Komplexität der in den Eluatenthaltenen Inhaltsstoffe auf ein möglichst breites Spektrum von Schadstoffen reagieren. Die Versuche sollten praktikabel, d. h. überschaubar, rationell und eventuell automatisierbar,

außerdem von möglichst kurzer Dauer und gut kontrollierbar sein. Auch ist die Standardisierbarkeit solcher Tests von Bedeutung.

Bei all diesen Bedingungen darf jedoch nicht übersehen werden, daß sich biologische Tests immer mit lebender Materie befassen, und die Testparameter und Endpunkte solcher Tests einer mehr oder weniger ausgeprägten Varianz unterliegen. Die Maßstäbe dürfen daher nicht zu hoch angelegt werden, da die verschiedenen Prozesse innerhalb von Organismen und Populationen grundsätzlich einer Dynamik unterliegen. „An biologische Tests werden häufig Maßstäbe hinsichtlich der Reproduzierbarkeit angelegt, die nur zum Ziel haben können, die Tests zu diskreditieren“ (KNIE 1989).

Beziehungen zwischen Mortalität, Überlebenszeit und Substanzkonzentrationen können selbst bei einfachen Labortests deutlich von Alter, Geschlecht, Reproduktionsvermögen etc. der Testorganismen abhängen (KORTE 1992). Biologische Systeme weisen auch unter identischen äußeren Bedingungen physiologische Unterschiede auf, die sich im Testergebnis niederschlagen können.

Die Auswahl der Testorganismen beschränkt sich in dieser Arbeit auf mikrobiologische und tierische Organismen. In einer weiteren Arbeit (Mathias Wundram, Botanisches Institut der TU Braunschweig) werden Pflanzentests durchgeführt.

Aufgrund der dargelegten Kriterien werden folgende Tests ausgewählt und erprobt:

Drei unterschiedliche Tests mit Mikroorganismen, bei denen Stoffwechselprozesse im Vordergrund stehen:

- der Leuchtbakterientest MICROTOX™ mit dem Leuchtbakterium *Vibrio fischeri*,
- der Gentoxizitätstest MUTATOX™ mit einer natürlichen dunklen Mutante von *V. fischeri*,
- der Hemmtest nach OFFHAUS mit einer Mischkultur aus Abwasser-Mikroorganismen.

Mit diesen drei Tests werden die Abfalleluate zusätzlich nach Behandlung mit Boden, Tonmineralen und / oder Humussäure-Natriumsalz untersucht, um Hinweise auf eine mögliche Sorption der Schadstoffe zu gewinnen (Sorptionsversuche).

Außerdem werden Tests mit Bodenorganismen durchgeführt. Um unterschiedliche Wege der Schadstoffaufnahme zu berücksichtigen, werden einerseits Tiere ausgewählt, die aufgrund ihrer Hautstruktur den Wasserhaushalt über das Integument regulieren und dadurch Schadstofflösungen transkutan aufnehmen (Regenwürmer), andererseits solche, deren Hautstruktur weniger durchlässig ist, so daß eine Aufnahme hier größtenteils oral erfolgt (Collembolen). Salzeffekte, die bei diesen Tests auftreten, werden anhand des Collembolentests mit *Folsomia candida* näher untersucht. Folgende Tests werden erprobt:

- der Regenwurmtest mit den Arten *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris* und *Lumbricus rubellus*,
- der Collembolentest mit den Arten *Folsomia candida* und *Sinella coeca*.

Außerdem werden erprobt:

- der Kontakt-Papier-Test ('filter paper contact test') mit den Collembolenarten *Folsomia candida*, *Ceratophysella (Hypogastrura) denticulata* und *Sinella coeca*,
- die Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität mit undefinierten Bodenmikroorganismen in Verbindung mit einem Respirationsversuch mit kontaminiertem Boden im Saprodaten.

Zur Diskussion stehen außerdem ein Reproduktions- bzw. Entwicklungstest mit dem Salinenkrebs *Artemia salina* und ein Reproduktionstest mit einer weiteren Collembolenart (*Iso-toma viridis*).

Bei dieser Studie handelt es sich um eine interdisziplinäre Arbeit auf den Gebieten der Biologie, der Ökologischen Chemie und der Ingenieurgeologie. Aus diesem Grunde werden biologische Sachverhalte näher erläutert, um sie auch für Nicht-Biologen verständlich zu machen, und *vice versa*. Biologische und chemische Fachbegriffe werden im Glossar erläutert, auch werden lateinische Artbezeichnungen aufgelistet.

## 2. Material und Methoden

Im ersten Teil dieses Kapitels werden die Abfalleluate, ihre Herstellung und Behandlung beschrieben. Im zweiten Teil folgt dann die Schilderung der erprobten (Öko-)Toxizitätstests.

### 2.1 Probenmaterial

Das in dieser Arbeit verwendete Probenmaterial besteht aus Eluaten mit 10 verschiedenen Abfallarten (Tab. 2.1). Die Abfälle werden nach TA ABFALL (1991) den in Tab. 2.1 aufgeführten Abfall-Schlüsseln zugeordnet und müssen aufgrund ihrer Inhaltsstoffe und ihres Mengenaufkommens untertägig deponiert werden. Die Auswahl der Abfälle deckt ein breites Feld der UTD-relevanten Abfallarten ab. Die verwendeten Abfälle wurden von der Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit (GRS, Braunschweig) zur Verfügung gestellt und dort auch mit drei geologisch relevanten Elutionsmitteln eluiert (s. Kap. 2.1.1.1). Die von der GRS verwendete CA-Numerierung (CA = chemische Analyse) der Proben wird beibehalten, die verschiedenen Elutionsmittel werden mit GW für die Grundwassereluat sowie mit IP9 bzw. IP21 für die Salzlaugeneluat gekennzeichnet. 202-IP9 z. B. ist also ein mit IP9-Lauge eluierter E-Filterstaub aus der Sonderabfallverbrennung usw.

**Tab. 2.1.** Verwendete Abfälle mit Abfall-Schlüsseln und Numerierung gemäß GRS. CA = chemische Analyse

CA-Nr.	Abfall-Schlüssel Nr.	Bezeichnung
205	313 16	Feste Pyrolyserückstände
204	515 20	Eisen(II)sulfat (Grünsalz)
202	313 11	E-Filterstaub aus Sonderabfallverbrennung
158	313 01	Filterstaub aus Steinkohlekraftwerk
157	313 01 (05)	Filterstaub aus Braunkohlekraftwerk
156	399 04	Gasreinigungsmasse (Leitung außer Betrieb)
155	399 04	Gasreinigungsmasse (Leitung in Betrieb)
153	313 09	Filterstäube aus Hausmüllverbrennung
151	313 08	Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung
150	313 08	Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung

Die Lagerung der Eluate erfolgt bei 15 °C im Dunkeln. Während der Lagerung entstandene Niederschläge werden vor Verwendung des jeweiligen Eluats durch Rühren und leichtes Erhitzen (COMBIMAG Magnetrührer und Heizplatte) aufgelöst. Das Eluat IP9-204 wird zusätzlich mit einem 0,45 µm - Membranfilter abfiltriert. Eine Neutralisation der Eluate erfolgt nur in einzelnen Fällen; s. hierzu Kap. 2.1.3.

## 2.1.1 Herstellung der Abfalleluate

### 2.1.1.1 Elutionsmittel

Im Salzgestein bei Eindringen von Wasser zu erwartende Laugen stellen Lösungen des hexären Systems ozeanischer Salzablagerungen  $[\text{Na}^+ \cdot \text{K}^+ \cdot \text{Ca}^{2+} \cdot \text{Mg}^{2+} \cdot \text{Cl}^- \cdot \text{SO}_4^{2-} \cdot \text{H}_2\text{O}]$  dar. Die Gleichgewichtszusammensetzungen dieses hexären Systems sind durch invariante Punkte (invariant points, IP) innerhalb des dazugehörigen Phasendiagramms definiert. Die in dieser Arbeit verwendeten Salzlaugen liegen im Phasendiagramm bei IP9 (Halit-Polyhalit-gesättigt;  $\text{NaCl} \cdot \text{Ca}_2\text{K}_2\text{Mg}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ ) bzw. bei IP21 (Halit-Polyhalit-Carnallit-Kainit-Sylvin-gesättigt,  $\text{NaCl} \cdot \text{KCl} \cdot \text{CaSO}_4 \cdot \text{MgCl}_2 \cdot \text{MgSO}_4$ ). Nähere Erläuterungen dazu finden sich bei EUGSTER et al. (1980) und REICHELT et al. (1995).

Da die natürlichen Laugen in ihrer Zusammensetzung leichten Schwankungen unterworfen sind und außerdem nicht in ausreichendem Umfang zur Verfügung standen, wurden sie nach theoretischer Berechnung der Salzgehalte synthetisch von der GRS hergestellt. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von Calciumsulfat wurden äquimolare Mengen Calciumchlorid und Natriumsulfat und entsprechend weniger Natriumchlorid eingesetzt (s. Anhang Tab. A.1).

Der pH- Wert der IP9-Lauge liegt bei pH 7,2 und derjenige der IP21-Lauge bei pH 6,1. Die analytisch ermittelte Elementzusammensetzung der Salzlaugen ist in Tab. 2.2 aufgeführt.

Bei Ablagerung der Abfälle in nichtsalinaren Untertagedeponien (UTD), z. B. in aufgelassenen Steinkohlebergwerken oder Tongruben, muß nach Einstellung des Gewinnungsbetriebes mit einem Zutritt von Grundwasser gerechnet werden, da damit auch das Abpumpen des Wasserzuflusses eingestellt wird. In Abhängigkeit von der tektonischen Beschaffenheit der Umgebung stellt sich dann ein natürlicher Grundwasserhaushalt ein. Dieses Grundwasser kann möglicherweise Schadstoffe aus eingelagerten Abfällen eluieren. Zur Abschätzung solcher Szenarien wird neben den Salzlaugen ein aus Freiberg (Sachsen) stammendes Originalgrundwasser als Elutionsmittel verwendet. Dieses fließt aus einer seitlichen Öffnung im Berg (Stollenmund) und ist bei der Passage von Regenwasser durch den Berg entstanden. Bei Erreichen des Stollenmundes kann nicht ganz verhindert werden, daß sich das Wasser mit Oberflächenwasser vermischt, so daß es sich um ein Mischwasser aus Grund- und



Oberflächenwasser handelt. Dadurch erklärt sich auch die für Grundwasser ungewöhnlich hohe Zink-Konzentration (Tab. 2.2). Das Wasser ist vom Ca-Mg-SO<sub>4</sub>-Typ und hat einen pH-Wert von 4,1. Die analytisch ermittelte Elementzusammensetzung des Grundwassers ist in Tab. 2.2 aufgelistet.

Neben den Eluaten werden in den Ökotoxizitätstests auch die reinen Salzlaugen getestet. Das Grundwasser steht schadstofffrei nicht zur Verfügung.

**Tab. 2.2.** Elementzusammensetzung der IP9- und IP21-Lösungen sowie des als Elutionsmittel verwendeten Grundwassers (Freiberg) in mg/L (BRASSER et al. 1998). Zur Kennzeichnung der über der Nachweisgrenze liegenden Elemente sind die zugehörigen mg-Angaben fettgedruckt. Für die IP-Laugen liegt die Nachweisgrenze aufgrund der hohen Salzgehalte gerätebedingt bei < 5 mg/L, für das Grundwasser bei < 0,5 mg/L.

Element	IP9-Lauge [mg/L]	IP21-Lauge [mg/L]	Grundwasser [mg/L]
Al	< 5	< 5	<b>34,3</b>
As	< 5	< 5	< 0,5
B	< 5	< 5	< 0,5
Ba	< 5	< 5	< 0,5
Ca	<b>190,0</b>	<b>30,5</b>	<b>146,0</b>
Cd	< 5	< 5	< 0,5
Co	< 5	< 5	< 0,5
Cr	< 5	< 5	< 0,5
Cu	< 5	< 5	<b>0,8</b>
Fe	< 5	< 5	<b>1,8</b>
Hg	< 5	< 5	< 0,5
K	<b>31.900,0</b>	<b>23.000,0</b>	<b>13,2</b>
Mg	<b>23.800,0</b>	<b>95.700,0</b>	<b>71,7</b>
Mn	< 5	< 5	<b>25,1</b>
Mo	< 5	< 5	< 0,5
Na	<b>90.900,0</b>	<b>9.000,0</b>	<b>61,5</b>
Ni	< 5	< 5	< 0,5
P	< 5	< 5	<b>0,98</b>
Pb	< 5	< 5	< 0,5
S	<b>11.100,0</b>	<b>7.900,0</b>	<b>358,0</b>
Sn	< 5	< 5	< 0,5
Sr	< 5	< 5	< 0,5
Ti	< 5	< 5	< 0,5
V	< 5	< 5	< 0,5
Zn	< 5	< 5	<b>83,4</b>

### 2.1.1.2 Kaskadenelution der Abfälle

200 g Abfall (auf Trockensubstanz bezogen) und 1000 mL Elutionsmittel werden in einer 2-Liter-PE-Flasche 24 Stunden eluiert (Horizontalschüttler, 1 U/min) und anschließend über einen 0,45 µL Membranfilter filtriert. 850 mL des Filtrats werden dann mit 170 g (Trockensubstanz) frischem Abfall versetzt und erneut eluiert (Kaskadenelution). Soweit möglich, wird bis zur siebten Kaskade eluiert. Dabei beträgt das Verhältnis zwischen Abfall und Elutionsmittel konstant 1:5. Diese Methode soll den Kontakt von Abfall und Salzlauge bzw. Grundwasser über mehrere Jahre in einer gefluteten UTD simulieren (angelehnt an VERSLUIJS et al. 1988). In einigen Fällen (Tab. 2.3) bindet der Abfall jedoch soviel Elutionsmittel, daß nur die zweite bis sechste Kaskadenstufe erreicht wird.

**Tab. 2.3.** Erreichte Kaskadenstufe mit den drei verschiedenen Elutionsmitteln. CA = chemische Analyse; ---- = Eluat nicht vorhanden

CA-Nr.	Elutionsmittel: IP9		Elutionsmittel: IP21		Elutionsmittel: Grundwasser	
	Erreichte Kaskadenstufe	pH-Wert bei 25°C	Erreichte Kaskadenstufe	pH-Wert bei 25°C	Erreichte Kaskadenstufe	pH-Wert bei 25°C
205	7	7,5	----	----	----	----
204	7	1,0	7	0,4	7	1,6
202	7	5,1	3	4,3	3	5,5
158	7	7,9	7	6,8	7	11,2
157	7	8,7	7	7,1	7	12,2
156	7	5,8	----	----	7	6,6
155	7	5,3	2	5,7	7	6,3
153	7	11,2	3	6,9	6	11,0
151	7	9,1	5	7,1	7	11,8
150	7	8,5	5	6,9	7	12,2

### 2.1.1.3 Dotierte Proben

Zu Vergleichszwecken werden als weitere Proben zwei verschiedene Salzlauge verwendet, die mit UTD-relevanten Schwermetallen dotiert werden (im folgenden bezeichnet als IP21-dot. und Q-Lauge Beienrode). Die Schwermetallmengen für IP21-dot. wurden im Vorläufer-Projekt ‚Auswahl und Untersuchung UTD-relevanter Abfallarten‘ (REICHELDT et al. 1995) ermittelt. Sie sind an die durchschnittlichen Gehalte angelehnt, die sich in IP21-Eluaten von

Rückständen aus Abfallverbrennungsanlagen finden. Die Schwermetalle werden abhängig von ihrer Wasserlöslichkeit als Nitrate (Pb) bzw. Chloride (Cd, Cu, Ni, Zn) eingewogen, zu einem Liter der bereits hergestellten (Tab. 2.2), auf 100 mL/L verdünnten IP21-Lauge gegeben und in einem geschlossenen Gefäß über 24 Stunden gerührt. Anschließend werden die dabei entstandenen Ausfällungen (hauptsächlich  $\text{PbCl}_2$  und  $\text{PbSO}_4$ , MÜLLER, persönliche Mitteilung) über einen 0,45  $\mu\text{m}$ -Membranfilter abfiltriert (Durchführung: Mathias Wundram, Botanisches Institut der TU Braunschweig). Das Filtrat enthält die in Tab. 2.4 aufgeführten Elementkonzentrationen.

**Tab. 2.4.** Gemessene und berechnete Elementgehalte in der dotierten IP21-Lauge, bezogen auf die unverdünnte Lauge (BRASSER et al. 1998)

Element	berechnet (mg/L) nach Einwaage der Salze	gemessen (mg/L)
B	0,0	< 5
Ca	25,0	27,2
Cd	103,0	94,5
Cu	10,0	10,0
Fe	0,0	< 5
K	25.000,0	19.600,0
Mg	99.000,0	93.400,0
Mn	0,0	< 5
Mo	0,0	< 5
Na	10.700,0	9.560,0
Ni	515,0	296,0
P	0,0	< 5
Pb	5.150,0	2.340,0
S	9.100,0	8.670,0
Sr	0,0	< 5
Zn	5.150,0	4.970,0

Für die Q-Lauge Beienrode wird eine Original-Lauge (Q-Lauge ist eine andere Bezeichnung für IP21) aus einer Teufe von 750 m (Tank Asse, 490 m Sohle) mit den in Tab. 2.5 aufgeführten Salzen dotiert. Die Schwermetallsalze wurden aufgrund einer Mitteilung von Dr. T. Brasser ausgewählt und dosiert. Kriterium für die Auswahl der Salze war gute Wasserlöslichkeit.

**Tab. 2.5.** Dotierung der Q-Lauge Beienrode (Beienrode II, Teufe 750 m, aus TankASSE, 490 m Sohle)

Salz	mg/L	entsprechend
$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	1085	678,52 mg Pb/L
$3 \text{ CdSO}_4 \cdot 8 \text{ H}_2\text{O}$	144	63 mg Cd/L
$\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$	3	1,73 mg K/L
$\text{CuSO}_4$	5	1,39 mg Cu/L
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	33	14,25 mg Na/L
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$	30	6,92 mg Zn/L
$\text{HgCl}_2$	3,9	2,85 mg Hg/L

## 2.1.2 Behandlung der Abfalleluate für Sorptionsversuche

### 2.1.2.1 Bodensorptionsversuche

#### 2.1.2.1.1 LUFA 2.2 Boden

Zur Untersuchung von Bodeneinflüssen auf die Abfalleluate, insbesondere Veränderung der Bioverfügbarkeit durch z. B. Änderung der Speziation der in den Eluaten enthaltenen Schadstoffe sowie Ad- und Desorption, werden die Eluate in unterschiedlichen Verdünnungen, abhängig von Toxizitätsgrad und Fragestellung, mit einem Standardboden (LUFA 2.2) geschüttelt (Tab. 2.6).

**Tab. 2.6.** Korngrößenanalyse LUFA 2.2 Boden mit Standardabweichungen bestimmt aus 10 Einzelchargen (LUFA 1993)

Korngrößenklasse [mm]	Körnungsart	Anteil [%]
< 0,002	Ton	$5,1 \pm 1,4$
0,002 – 0,006	Feinschluff	$2,1 \pm 0,7$
0,006 – 0,02	Mittelschluff	$3,5 \pm 1,4$
0,02 – 0,063	Grobschluff	$7,4 \pm 3,5$
0,063 – 0,2	Feinsand	$27,4 \pm 5,0$
0,2 – 0,63	Mittelsand	$52,6 \pm 3,3$
0,63 – 2,0	Grobsand	$2,0 \pm 0,6$

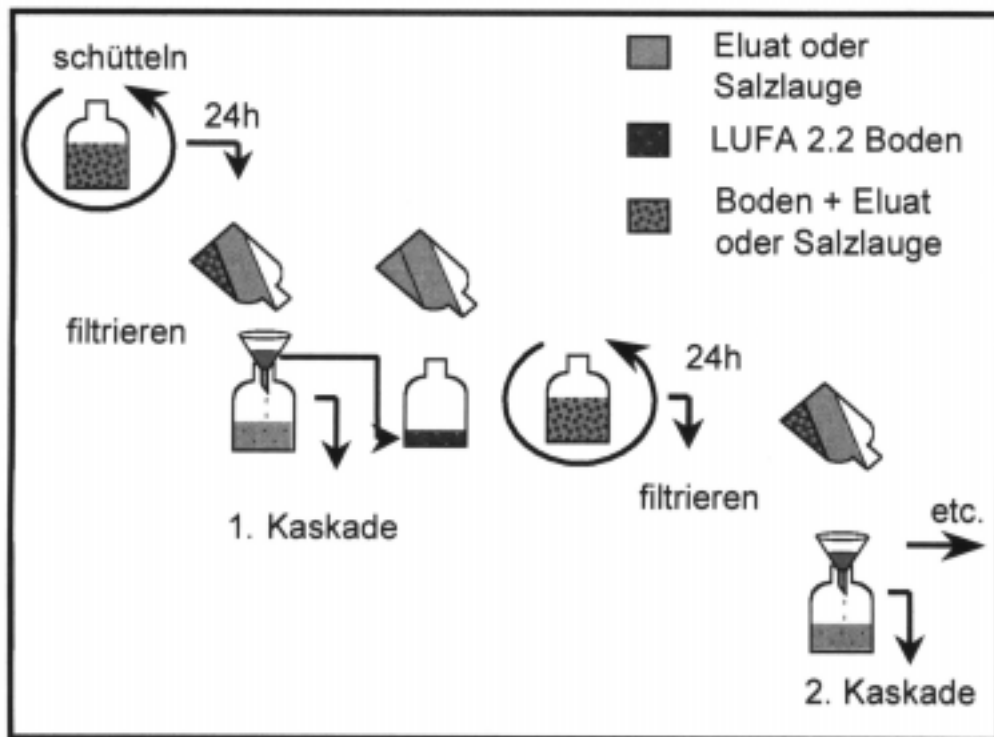
Für alle Bodensorptionsversuche wird der LUFA 2.2 Boden mit der Chargen-Nr. F 21593 (LUFA 1993) verwendet (Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer; Entnahmestelle: Großer Striet, Hanhofen, Rheinland-Pfalz, Tiefe: ca. 20 cm, A-Horizont). Der Boden weist einen organischen Kohlenstoffgehalt von 2,29 % ( $\pm 0,37$  Standardabweichung aus 10 Einzelchargen), einen pH-Wert von 5,8, eine Kationenaustauschkapazität von 9,7 mval/100 g ( $\pm 0,3$  s. o.), einen Humusgehalt (Bestimmung über Na $\beta$ oxidation, ÖNORM L 1081, 1989) von 3,5% und einen Tongehalt von 5 % auf. Die maximale Wasserhaltekapazität (WHK) des Bodens entspricht 44,0 g/100 g Trockenmasse. Tab. 2.6 zeigt die Korngrößenanalyse des Bodens.

#### **2.1.2.1.2 Bodenbehandlung**

Für die Bodensorptionsversuche werden die Abfalleluate zunächst verdünnt. In den Tests mit *Vibrio fischeri* (Kap. 2.2.1 und 2.2.2) ist der Verdünnungsgrad abhängig von der in Versuchen ohne Bodeneinfluß ermittelten jeweiligen (Leuchtbakterien-) Toxizität des Eluats. In den Sapromatversuchen (Kap. 2.2.3) werden die fünf im Test ohne Bodeneinfluß getesteten Verdünnungsstufen eingesetzt (i. a. 1, 2, 10, 20, 50 mL/L). Nach Verdünnung werden Boden und verdünntes Eluat im Verhältnis 1:10 (DEV S4) vermischt und 24 Stunden bei 1 U/min über Kopf geschüttelt. Anschließend erfolgt eine Filtration der Bodensuspension (Cellulose-Acetat-Filter: 595 ½, Durchmesser 150 mm, Ref. No. 311645, Schleicher und Schüll, Dassel). Das Filtrat wird dann auf seine Toxizität untersucht und chemisch analysiert (Analytik: Marc Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik der TU Braunschweig).

#### **2.1.2.1.3 Boden-Kaskadenbehandlung**

Mit ausgewählten Abfalleluaten (IP9, 204-IP9, IP21, 153-IP21, 153-GW jeweils 1. – 4. Kaskade; 202-IP9, 202-GW jeweils 1. – 3. Kaskade) wird eine Boden-Kaskadenbehandlung durchgeführt, bei der nach der Filtration des Bodeneluats erneut in gleichem Maße verdünntes Abfalleuat auf den bereits verwendeten Boden gegeben wird, und zwar im gleichen Verhältnis wie bei der einfachen Bodenbehandlung. Nach 24-stündigem Über-Kopf-Schütteln wird wiederum abfiltriert. Auch hier werden die unter 2.1.2.1.2 beschriebenen Cellulose-Acetat-Filter verwendet. Dieses Verfahren (Abb. 2.1, S. 15) wird ein- bzw. zweimal wiederholt, so daß am Ende der Boden-Kaskadenbehandlung drei bzw. vier Kaskadenfiltrate zur Verfügung stehen. Bis zum Abschluß der Kaskadenbehandlung werden die bereits filtrierten Kaskadenbehandlungen im Kühlschrank gelagert.



**Abb. 2.1.** Methodik der Boden-Kaskadenbehandlung. LUFA2.2 Boden (dunkelgrau) und Eluat oder Salzlauge (grau) werden im Verhältnis 1:10 gemischt, anschließend geschüttelt und filtriert. Die in den Flaschen dargestellte Färbung der enthaltenen Mischung hängt vom jeweiligen Anteil der Bestandteile (Boden und Eluat bzw. Lauge) ab. Die Filtration der Mischung aus Boden und Eluat bzw. Salzlauge erfolgt mit Hilfe von Cellulose-Acetat-Filtern (595  $\frac{1}{2}$ , Durchmesser 150 mm, Schleicher und Schüll, Dassel)

### 2.1.2.2 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Tonmineralen

Welche Rolle Tonminerale und Huminstoffe bei der Sorption der Schadstoffe spielen, soll in Versuchen mit feingemahlenem Bentonit, als Gestein mit hohem Gehalt an dem aufweitbaren Dreischicht-Tonmineral Montmorillonit, ermittelt werden. Außerdem werden Montmorillonit in Reinform sowie das Natriumsalz einer käuflichen Humussäure (auch verwendet bei MOREL et al. 1988) in ihrer sorptiven Wirkung getestet. Dazu werden die bereits verdünnten Abfalleuate mit Tonmineral, Humussäure-Natriumsalz oder Tonmineral-Humussäure-Natriumsalz-Gemisch versetzt und ökotoxikologisch getestet. Die verwendeten Mengen richten sich nach Ton- und Humusgehalt des LUFA 2.2 Bodens. Der Boden enthält 5% Ton und 3,5% Humus. Bei einem Versuchsansatz mit einem Verhältnis von Boden zu Testlösung = 1:10 entspricht das Verhältnis von Ton zu Testlösung 0,05:10 und von Humus zu Testlösung 0,035:10. Entsprechend werden Bentonit (DAB 10/Ph. Eur.; Ch.-B. 33454383, Caesar und Loretz GmbH, Hilden), Montmorillonit (KSF, CAS-Nr. [1318-93-0], FLUKA Chemie Neu-Ulm) und Humussäure-Natriumsalz (Katalog-Nr. H 1,675-2, Aldrich, Steinheim) eingewogen (Tab. 2.7 in Kap. 2.2.4).

In einem weiteren Versuch werden 5, 50, 500 und 5000 mg Bentonit/L eingewogen und zu 153-IP21, das zuvor auf 50 mL/L verdünnt wurde, gegeben.

### 2.1.3 pH-Werte und Färbung der Eluate

Die meisten der getesteten Eluate liegen nach Verdünnung im pH-Toleranzbereich der Leuchtbakterien und Abwasser-Mikroorganismen. Bei einigen Eluaten ist der pH-Wert jedoch zu hoch oder zu niedrig. Beispielhaft wird deshalb für 153-IP9 (pH 10 bei 20 mL/L) und 153-GW (pH 10,5 bei 20 mL/L) ein Vergleich von Original-Eluat und jeweils neutralisiertem Eluat im MICROTOX™-Test durchgeführt mit dem Ergebnis, daß das jeweils neutralisierte Eluat noch toxischer auf die Leuchtbakterien wirkt (Tab. A.2 im Anhang). Offensichtlich erfährt das Eluat durch die Neutralisation eine chemische Veränderung und die Toxizität entspricht nicht mehr dem Original-Eluat. Desweiteren kann die Neutralisation zu starken Niederschlägen führen und dadurch die Toxizität herabsetzen. Aus diesem Grunde sind die Eluate von CA 204 im Leuchtbakterientest nicht sinnvoll zu testen. Nicht neutralisiert ist der pH-Wert viel zu niedrig (pH-Werte der unverdünnten Eluate liegen zwischen 0,4 und 1,6), bei Neutralisation kommt es zu einer erheblichen Niederschlagsbildung (hauptsächlich Fe(III)oxidhydrate). Das Eluat kann dann zwar getestet werden (s. 204-GW), das Ergebnis beinhaltet aber einen großen Unsicherheitsfaktor, da einerseits die durch die Neutralisation hervorgerufene Trübung zu einem sehr breiten 95%-Vertrauensbereich führt, andererseits durch den Niederschlag toxische Inhaltsstoffe aus dem Eluat ggf. nicht mehr verfügbar sind, so daß es zu einer starken Verminderung der Toxizität kommt. Eine Neutralisation der Abfalleluate erfolgt daher nur in wenigen Fällen (s. o. 204-GW, einige Eluate für MUTATOX™-Test).

Der pH-Toleranzbereich der Abwasser-Mikroorganismen ist etwas höher (4,5 – 10). Dieses wurde in einem Vorversuch unter Verwendung von mit Salzsäure bzw. Natronlauge versetzter IP-Lauge und dest. Wasser ermittelt (s. auch Kap. 3.3). Die Eluate von CA 204 können daher mit diesem Test in nicht neutralisierter Form bis zu einer bestimmten Konzentration getestet werden.

Problematisch für den Leuchtbakterientest sind Proben mit starker Trübung oder Färbung, da sie das von den Leuchtbakterien emittierte Licht absorbieren können und damit das Ergebnis verfälschen. Der Einsatz einer Farbkorrekturküvette für eine solche Testlösung führt zu einer starken Verbreiterung des 95%-Vertrauensbereichs oder sogar zu einer Vortäuschung von Toxizität, so daß  $EC_{50}$ -Werte nur mit einer sehr großen Unsicherheit angegeben werden können (HAUSER 1996). Die Verwendung einer Kalibrierkurve mit gefärbten untoxischen Lösungen (LIEDTKE 1996) bringt hier nicht den gewünschten Erfolg, da die in dieser Arbeit verwendeten Humussäure-Konzentrationen so hoch sind, daß sie eine kaum lichtdurchlässige Färbung hervorrufen, die schon bei unkontaminierten Proben einen starken

Quench verursachen (s. auch Kap. 3.4.1.3). Sehr stark getrübbte oder gefärbte Proben werden daher im MICROTOX™-Test nicht untersucht.

## 2.2 (Öko-)Toxizitätstests

### 2.2.1 Leuchtbakterientest MICROTOX™

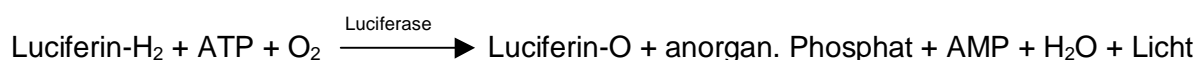
#### 2.2.1.1 Testprinzip

Bei Kontakt der Leuchtbakterien mit einer für sie toxischen Probe nimmt deren Lichtemission im Laufe einer Inkubation deutlich ab. Die Veränderung der Lichtemission wird photometrisch bestimmt.

#### 2.2.1.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte

Als Testorganismus wird das Leuchtbakterium *Vibrio fischeri* (vormals als *Photobacterium phosphoreum* bezeichnet; Stamm-Nr. NRRL B-11177) eingesetzt.

Leuchtbakterien sind halophil und kryophil (höchste Wachstumsraten unter 20 °C). Alle bisher isolierten Leuchtbakterien sind Gram-negativ, fakultativ anaerob und durch Geißeln beweglich. Der Leuchtvorgang ist ein aerober Oxidationsprozeß und stellt einen Nebenweg der Atmung dar, der nicht zur Produktion von Adenosintriphosphat (ATP), sondern zur Anregung einer Intermediärverbindung führt, die Licht aussendet. Das Reaktionssubstrat ist das Luciferin, welches in Anwesenheit von Wasser, Sauerstoff und unter Mitwirkung von ATP durch Vermittlung des Enzyms Luciferase oxidiert wird (TARDENT 1993). Durch Phosphatabspaltung von ATP entsteht außerdem Adenosinmonophosphat (AMP).



Bei dieser Reaktion werden 80 – 95 % der chemischen Energie in Form von Licht freigesetzt (5 – 20 % Wärme). Der für die bakterielle Lumineszenz verantwortliche Stoffwechselweg ist Bestandteil der Elektronentransportkette. Durch die Messung der Lumineszenz wird indirekt der Fluß der Elektronen in der Atmungskette und der metabolische Zustand der Zelle bestimmt (HASTINGS 1978).

Verschiedene Regelkreise kontrollieren die Höhe der Lichtemission bei *V. fischeri*. Die Biolumineszenz hängt zum einen vom Energiezustand der Zelle ab, da die Luciferase-Reaktion an ATP und FMNH<sub>2</sub> (Flavinmononukleotid, reduzierte Form) gebunden ist. Zum anderen sind biochemische Prozesse beteiligt, da es sich bei der Lumineszenz um einen enzymatischen

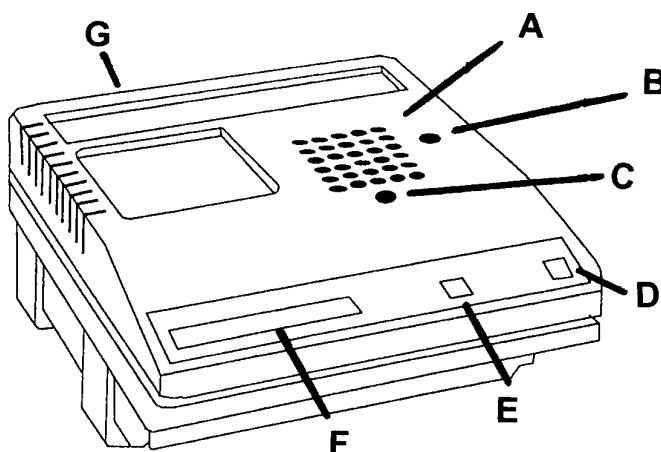


Prozess handelt. Als dritten Faktor gibt es einen sogenannten Autoinducer, ein kleines organisches Molekül, dessen externe Konzentration die Biolumineszenz reguliert (MEIGHEN und DUNLAP 1993, KUO et al. 1994).

Die Bakterien werden in gefriergetrockneter Form von der Firma Microbics bezogen und müssen bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  im Gefrierschrank gelagert werden. Kurz vor Testbeginn werden sie mit Rekonstitutionslösung (hochreines Wasser, Fa. Microbics) rehydratisiert, wobei pro Bakterienvial 1 mL Rekonstitutionslösung verwendet wird. Diese Bakteriensuspension mit rund einer Million Organismen reicht aus für drei bis vier Testdurchläufe à ein bis zwei Proben, abhängig von der Anzahl der Verdünnungsstufen; bei vier Verdünnungsstufen können zwei Proben, bei acht bis neun Verdünnungsstufen kann eine Probe pro Testdurchlauf getestet werden.

Zur Messung der Lichtemission der Leuchtbakterien dient der MICROTOX™ Toxicity Analyzer M 500 (Fa. Microbics; Abb. 2.2), der bei Benutzung des MICROTOX™ Modus auf  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  bzw.  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ('Reagent well', zur Aufbewahrung der Leuchtbakterien-Suspension) temperiert ist. Als Verdünnungslösung wird 2%-ige NaCl-Lösung, angesetzt mit Seralpur-Wasser (Reinstwasser, hergestellt mit Seralpur® Pro 90C Anlage, Fa. Seral, Reinstwassersysteme, Ransbach) verwendet. Bei einem zu geringen Salzgehalt wird die Probe mit osmotischer Anpassungslösung (OAS, Fa. Microbics) aufgesalzen.

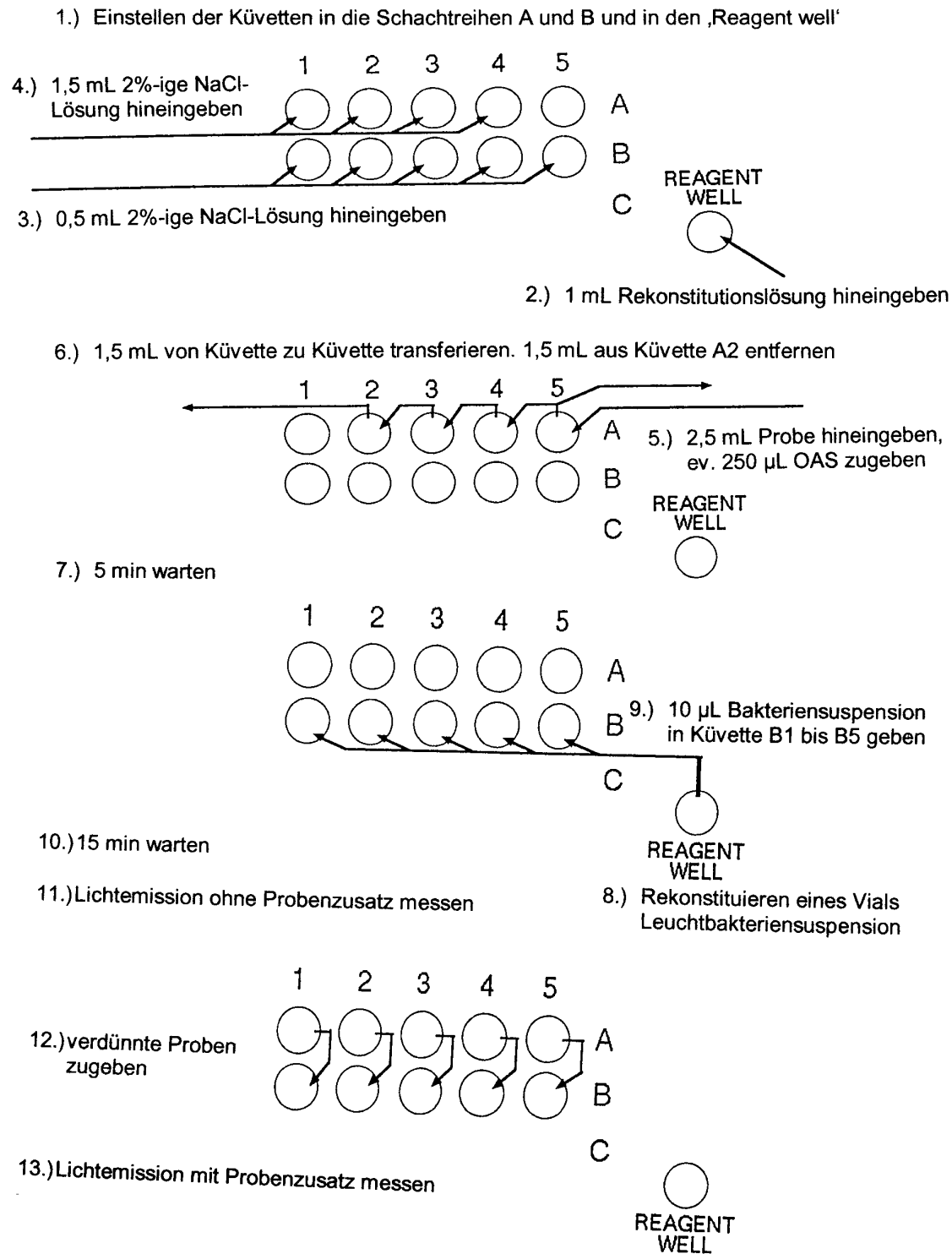
Testküvetten werden von der Firma Gonotec GmbH, Berlin, bezogen.



**Abb. 2.2.** MICROTOX™ Toxicity Analyzer M 500 (Fa. Microbics). **A:** Inkubator-Block mit 30 Küvetten. Temperierung:  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  für MICROTOX™-Test,  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  für MUTATOX™-Test. **B:** 'Reagent well'; Schacht zur Aufbewahrung der Leuchtbakterien-suspension bei  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . **C:** Meß-Schacht zur Messung der Lichtemission der Leuchtbakterien. Temperierung:  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  für MICROTOX™-Test,  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  für MUTATOX™-Test. **D:** SET-Taste. Das Drücken dieser Taste bewirkt die Kalibrierung des Analyzers entsprechend der Lichtemission der in **B** befindlichen Probe. **E:** Meß-Taste. Messung der Lichtemission der in **B** befindlichen Küvette. **F:** Digitales Display, zeigt den Wert der Lichtemission an. **G:** Schalter zur Einstellung der Temperatur auf  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  oder  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  (an der Rückseite des Gerätes).

### 2.2.1.3 Testdurchführung

Laut MICROTOX™-Manual (1995) der Firma Microbics erfordert die zu testende Probe einen pH-Wert zwischen 6 und 8 (s. dazu Kap. 2.1.3) und einen Salzgehalt von ungefähr 2%. Die höheren Konzentrationen der IP-Eluate müssen aufgrund ihres ohnehin hohen Salzgehaltes nicht aufgesalzen werden, bei stärkeren Verdünnungen (ab 200 mL/L) und bei Verwendung der Grundwassereluate werden die Proben jedoch mit OAS versetzt. Die zu testende Probe wird zunächst mit dest. Wasser auf 100 mL/L verdünnt. IP9 und IP21 sind bereits von der GRS auf 100 mL/L vorverdünnt worden, daher kann bei den reinen Elutionsmitteln keine höhere Konzentration getestet werden. Durch das Testverfahren bedingt, ist die höchste getestete Konzentration damit 50 mL/L bzw. 45 mL/L bei Verwendung von OAS. Stellt sich heraus, daß die gewählte Konzentration noch zu hoch ist, wird der Test mit einer stärker verdünnten Probe wiederholt. Verdünnungsreihen innerhalb des Testsystems werden mit 2%-iger NaCl-Lösung erstellt (Abb. 2.3). Für eine Verdünnungsreihe mit vier Verdünnungen werden fünf Küvetten benötigt. In den Küvetten 1 – 4 befinden sich dazu 1,5 mL dieser NaCl-Lösung. 2,5 mL der Probe werden in Küvette 5 gegeben und, wenn nötig, mit 0,25 mL OAS versetzt. Nun werden 0,5 mL aus Küvette 5 in Küvette 4 transferiert und mit der Salzlösung gemischt. Dieses wird bis zur Küvette 2 wiederholt. Aus Küvette 2 werden 1,5 mL Testlösung entfernt, um überall das gleiche Oberflächen-Volumen-Verhältnis zu erhalten. Dieses gewährleistet eine gleichmäßige Temperierung der Proben. Küvette 1 bleibt ohne Probenzusatz und stellt die Kontrolle dar. Pro Kontroll- und Probenküvette werden zwei weitere Küvetten mit 0,5 mL NaCl-Lösung vorbereitet und in den dafür vorgesehenen Küvettenschächten auf 15 °C temperiert. Anschließend werden jeweils 0,01 mL Bakteriensuspension, die zuvor mit 1 mL Rekonstitutionslösung (pro Bakterien-Vial) versetzt wurden, zugegeben. Nach einer Akklimatisierungszeit von 15 min wird das Ausgangsleuchten der Leuchtbakterien in diesen Küvetten gemessen, anschließend werden jeweils 0,5 mL Test- bzw. Kontrolllösung aus den vorbereiteten Proben- bzw. Kontrollküvetten in die die Bakteriensuspension enthaltenden Küvetten gegeben. Nach Kontaktzeiten von 5, 15 und 30 min wird die Lichtemission der Leuchtbakterien bestimmt. Über die eigens für den MICROTOX™-Test entwickelte Software (Firma Microbics) wird der EC<sub>50</sub>-Wert der Probe berechnet, der die Konzentration bezeichnet, bei der 50% der Testorganismen einen bestimmten Effekt – hier entspricht das einer Reduktion der Lichtemission um 50% – zeigen. Gleichzeitig wird der 95%-Vertrauensbereich dieses Wertes angegeben. Genaue Erläuterungen hierzu finden sich im MICROTOX™-Manual (1995) und unter HAUSER (1996).



**Abb. 2.3.** Versuchsablauf Leuchtbakterientest (MICROTOX™-Manual 1995).

Im MICROTOX™-Test werden bis auf Q-Lauge Beienrode, 204-IP9 und 204-IP21 alle Eluate getestet.

## 2.2.2 Gentoxizitätstest MUTATOX™

### 2.2.2.1 Testprinzip

Die in diesem Test eingesetzten Mikroorganismen sind dunkle Spontanmutanten von *Vibrio fischeri*. Subletale Konzentrationen gentoxischer Substanzen bewirken die Rückmutation der Bakterien, die als erhöhte Lichtemission photometrisch detektiert werden kann.

### 2.2.2.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte

Die Firma Microbics bietet den MUTATOX™-Test in Form eines kompletten Testkits an, bestehend aus gefriergetrockneten Bakterien, zwei ebenfalls gefriergetrockneten Testmedien und einer Rekonstitutionslösung. Testorganismus ist ebenso wie im MICROTOX™-Test das Leuchtbakterium *Vibrio fischeri*, jedoch als dunkle Spontanmutante, Stamm M169.

Die Testmedien enthalten 3% NaCl sowie verschiedene Nährstoffe in geringer Menge und Breitband-Antibiotika. Diese Zusammensetzung minimiert die Gefahr einer Kontamination mit anderen Mikroorganismen. Zudem werden die Bakterien so ausreichend mit Nährstoffen versorgt. Zur Untersuchung potentiell gentoxischer Substanzen enthält eines der beiden Medien zusätzlich eine als S9-Mix bezeichnete Enzymfraktion, die aus einem mit einer PCB-Mischung (Arochlor) induzierten Rattenleberhomogenisat besteht. Der S9-Mix bewirkt eine enzymatische Aktivierung von Chemikalien (soweit möglich), wie z. B. die Epoxidierung polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAKs), welche erst durch diesen Prozeß ihre mutagene Wirkung entfalten.

Die Messung der Lichtemission erfolgt mit Hilfe des MICROTOX™ Toxicity Analyzers M 500 (Fa. Microbics; Abb. 2.2), unter Verwendung des MUTATOX™ Modus mit einer Temperierung auf 27 °C bzw. 5 °C („Reagent well“, zur Aufbewahrung der Leuchtbakteriensuspension) und der entsprechenden Computersoftware zur Datenerfassung.

Die Proben werden in einem Wasserbad (Kryostat Colora WK 100) temperiert. Die optische Dichte der Proben wird mit einem Dr. Lange Spektralphotometer Cadas 100 bestimmt.

Benzo[a]pyren, gelöst in DMSO, dient für Proben mit S9 Mix als Positiv-Kontrolle, für Positiv-Kontrollen ohne S9 Mix wird Phenol eingesetzt.

### 2.2.2.3 Testdurchführung

Die Testdurchführung erfolgt nach dem MUTATOX™ Manual (1993) der Firma Microbics.

Die Testmedien werden mit je 15 mL 4±3 °C kalter Rekonstitutionslösung rehydratisiert und während des Pipettierens in einem Eisbad aufbewahrt. Jeweils 50 Testküvetten werden mit

Medium ohne S9-Mix bzw. mit S9-Mix befüllt. In die Küvetten, die als Basis für eine Verdünnungsreihe dienen sollen, wird soviel Medium gegeben, daß nach Zugabe der Testlösung insgesamt 500 µL Lösung vorliegen. Durch Transfer von jeweils 250 µL Lösung von Küvette zu Küvette wird eine Verdünnungsreihe erstellt. Aus der letzten Küvette werden 250 µL Lösung verworfen, um ein einheitliches Oberflächen-Volumen-Verhältnis in allen Küvetten zu erhalten und damit eine gleichmäßige Temperierung zu gewährleisten. Zusätzlich zu den Testlösungen werden eine Medienkontrolle aus dem jeweiligen Medium zur Ermittlung von spontanen Rückmutationen, sowie eine positive Kontrolle für jedes Medium vorbereitet. Für das Medium ohne S9-Mix dient Phenol in einer Konzentration von 200 mg/L als Positiv-Kontrolle, für das Medium mit S9-Mix wird Benzo[a]pyren in einer Konzentration von 10 mg/L (gelöst in Dimethylsulfoxid) verwendet. Die höchste getestete Konzentration liegt bei 50 mL/L für die unbehandelten Abfalleluate und bei 200 mL/L (ohne Berücksichtigung der Vorverdünnung) für die mit Boden behandelten Eluate.

Nach Vorbereitung aller Testküvetten werden die Bakterien mit 1,1 mL Rekonstitutionslösung rekonstituiert. Ohne die Küvettenwände zu berühren, werden anschließend jeweils 10 µL Bakteriensuspension in die Küvetten pipettiert. Nach einer 45-minütigen Vorinkubation der Testlösungen mit S9-Mix bei 35 °C werden die Küvetten über 24 h bei 27 °C inkubiert. Die Messung der bakteriellen Lichtemission erfolgt nach 12, 14, 16, 18, 20, 22 und 24 h.

Zur Auswertung des Tests wird die durchschnittliche Lumineszenz der Bakterien in den Medienkontrollen ermittelt und mit den Ergebnissen aus den Testlösungen verglichen. Übersteigt die induzierte Lumineszenz einer Probe bei mindestens zwei der getesteten Verdünnungen den Durchschnitt der Kontrollen um wenigstens das Doppelte, wird die Probe als gentoxisch eingestuft.

Nach Beendigung des Tests wird die optische Dichte der Proben bei 590 nm (HAUSER 1996) gemessen. Dazu werden alle Testlösungen zur Erreichung der für die Messung erforderlichen Füllhöhe mit 2 mL 2%-iger NaCl-Lösung versetzt. Eine stetige Abnahme der optischen Dichte mit zunehmender Konzentration der Testlösung weist auf toxische und/oder wachstumshemmende Eigenschaften der Testlösung hin. Anhand dieser Ergebnisse kann ermittelt werden, ob bei einer niedrigen Lumineszenz eine Leuchtbakterientoxizität vorliegt, die eine eventuelle Gentoxizität überdeckt. Liegt z. B. in einer bestimmten Konzentration eine erhöhte Lumineszenz vor, in der darauffolgenden aber nicht mehr, muß davon ausgegangen werden, daß die Testlösung in dieser Konzentration leuchtbakterientoxisch wirkt. Eine verringerte optische Dichte ist dann ein weiterer Hinweis darauf, daß eine leuchtbakterientoxische Konzentration erreicht wurde.

Aus Kostengründen wird nur eine Auswahl der Eluate im MUTATOX™-Test untersucht. Es sind dies die Eluate 205-IP9, alle Eluate von CA 202, 158-GW, 157-GW, die beiden vorhandenen Eluate von CA 156, alle Eluate von CA 155 und CA 153.

### 2.2.3 Hemmtest nach OFFHAUS (Sapromat-Versuche)

#### 2.2.3.1 Testprinzip

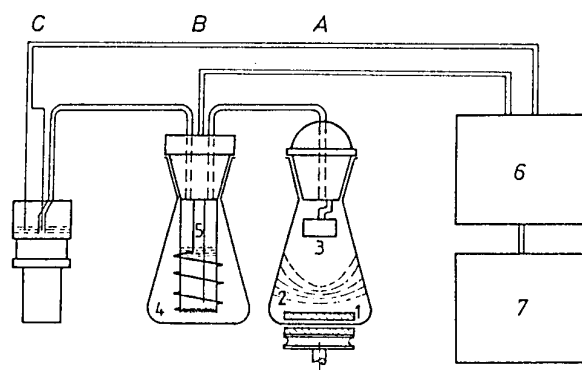
Der biochemische Sauerstoffbedarf (BSB) resultiert aus der Atmung der in einer Probe enthaltenen Mikroorganismen. Er ist einerseits ein Maß für die (mikrobielle) Abbaubarkeit der Inhaltsstoffe einer mit Abwasser-Mikroorganismen versetzten Testlösung, andererseits ein Indikator für deren (mikrobielle) Toxizität, wenn abbaubares Substrat in der Lösung enthalten ist. Mit dem Hemmtest nach OFFHAUS (1965) kann diese Toxizität unter Zusatz einer leicht abbaubaren Kohlenstoffquelle ermittelt werden. Ist die zu testende Probe toxisch, wird der mikrobielle Abbau dieser Kohlenstoffquelle und damit der Sauerstoffverbrauch gehemmt. Enthält die Probe dagegen keine bioverfügbaren toxischen Substanzen, ergibt sich ein dem Blindwert entsprechender hoher BSB-Wert.

#### 2.2.3.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte

Als Testorganismen dienen Abwasser-Mikroorganismen (Impfwasser) in einer undefinierten Mischkultur (Bakterien, Pilze, in geringem Maße Protisten) aus dem Ablauf der Kläranlage Salzgitter bzw. Watenbüttel bei Braunschweig. Dieses Impfwasser kann z. B. *Zoogloea ramigera*, *Sphaerotilus natans* und *Spirillum spp.* (BICK 1989) enthalten.

Pepton, aus Casein pankreatisch verdaut (CAS-Nr. [91079-40-2] Merck, Darmstadt), wird als leicht abbaubare Kohlenstoffquelle verwendet.

Die Messung des BSB erfolgt im Sapromaten D12 der Firma Voith (Abb. 2.4), zusätzlich werden ein Wasserbad und eine Registriereinheit (PC mit entsprechender Software der Firma Voith) verwendet.



**Abb. 2.4.** Meßeinheit eines Sapromaten. **A:** Reaktionsgefäß. **B:** Sauerstofferzeuger. **C:** Schaltmanometer (Druckindikator). **1:** Magnetrührer. **2:** Probe (250 mL). **3:** Kohlendioxid-Absorber. **4:** Elektrolyt. **5:** Elektroden (Platinanode und Kupferkathode). **6:** Steuergerät D12. **7:** Aufnahme- und Auswerteeinheit (VOITH 1989).

Die Meßeinheit eines Sapromaten (Abb. 2.4) besteht aus einem Reaktionsgefäß mit Rührkern und Absorptionsköcher. Das Reaktionsgefäß ist luftdicht mit einem Sauerstofferzeuger verbunden. Dieser Sauerstofferzeuger enthält Kupfersulfatlösung und eine Kupferkathode und ist mit einem Druckindikator verbunden, der wiederum an eine Registriereinheit angeschlossen ist. Verbrauchen die Mikroorganismen Sauerstoff, entsteht im Gegenzug Kohlendioxid, welches von im Absorptionsköcher befindlichen Natronkalk-Plätzchen absorbiert wird. Der daraus resultierende Druckabfall führt zu einer Nachlieferung von Sauerstoff durch den Sauerstofferzeuger sowie zur Weiterleitung eines Impulses an die Registriereinheit. Die Impulse werden rechnerintern in mg O<sub>2</sub>/L umgerechnet und als solche ausgegeben und gespeichert.

### **2.2.3.3 Testdurchführung**

Die Abfalleluatate werden mit dest. Wasser unter Zusatz von 4 mL Impfwasser/L und 100 mg Pepton/L (Ermittlung dieser Mengen durch Vorversuche) auf 1 mL/L, 2mL/L, 10 mL/L, 20 mL/L und 50 mL/L (sowie 0,25 mL/L und 0,5 mL/L in Ausnahmefällen) verdünnt. Als Kontrolle wird Leitungswasser (ebenfalls mit Impfwasser und Pepton) verwendet, um die Fitness der Abwasser-Mikroorganismen sowie deren Hemmung durch die Testlösung abschätzen zu können. Zudem kann durch die gleichbleibende Kontrolle ermittelt werden, ob es große Schwankungen zwischen den einzelnen Versuchsdurchläufen gibt. Schwankungen in den Ionengehalten im Leitungswasser sind dabei gegenüber den Schwankungen in der Zusammensetzung des Impfwassers vernachlässigbar. Jeweils 250 mL der Testlösungen werden in die mit Rührkernen versehenen Reaktionsgefäße des Sapromaten gegeben und verschlossen. Für jede Probe erfolgt eine Doppelbestimmung. Nach einem 30-minütigen Angleich an die Temperatur des Wasserbades (20 °C) wird der Versuch gestartet und der BSB über fünf Tage (120 Stunden) ermittelt (BSB<sub>5</sub>). Die Hemmung des mikrobiellen Sauerstoffverbrauchs durch die Testlösung kann anhand der erhaltenen Werte berechnet werden. Im Hemmtest nach OFFHAUS werden bis auf 204-GW und 204-IP21 alle Eluate und Laugen getestet.

### **2.2.4 Sorptionsversuche**

Zur Abschätzung der Sorptionsphänomene und Matrixeffekte durch den LUFA 2.2 Boden werden die Bodenfiltrate und Boden-Kaskadenfiltrate im MICROTOX™-, MUTATOX™- und im Hemmtest nach OFFHAUS eingesetzt. Während die Bodenfiltrate aufzeigen sollen, in welchem Maße die Toxizität der Testlösungen durch einfaches Einwirken von Boden verändert wird, dienen die Versuche mit den Boden-Kaskadenfiltraten (Tab. 2.7) zur empirischen Untersuchung von Sorptionskinetik und Sorptionskapazität des verwendeten LUFA Bodens

und sollen zudem den wiederholten Kontakt desselben Bodens mit frischer Schadstofflösung simulieren.

**Tab. 2.7.** Kaskadenbehandlungen: Eluate, Kaskadenstufen und angewandte Tests.

Eluate	Verdünnung vor Kaskadenbehandlung in mL/L	Kaskadenstufen	pH-Wert nach Behandlung	durchgeführte Tests
<b>204-IP9</b>	2	1	5,2	Hemmtest nach OFFHAUS
		2	4,4	
		3	4,2	
		4	4,3	
<b>202-IP9</b>	1	1	6,3	MICROTOX™
		2	6,3	
		3	6,3	
<b>202-GW</b>	2	1	6,1	MICROTOX™
		2	6,2	
		3	6,2	
<b>153-IP21</b>	50	1	6,1	MICROTOX™ Hemmtest nach OFFHAUS MUTATOX™
		2	6,5	
		3	6,9	
		4	7,0	
<b>153-GW</b>	2,5	1	6,4	MICROTOX™
		2	6,4	
<b>153-GW</b>	10	1	6,5	MICROTOX™ Hemmtest nach OFFHAUS
		2	6,6	
		3	6,8	
		4	7,0	
<b>150-IP9</b>	100	1	5,8	MICROTOX™
		2	5,9	

In einem Zusatzversuch wird Boden mit dest. Wasser im Verhältnis 1:5 eluiert. Nach anschließender Filtration wird das Filtrat als Verdünnungswasser verwendet (statt üblicherweise nur dest. Wasser). 202-IP9 wird damit auf 5 mL/L verdünnt und im Sapromat gemessen. Mit diesem Versuch soll ermittelt werden, ob wasserlösliche Bestandteile des Bodens für eine ev. Abnahme der Toxizität der Eluate verantwortlich oder mitverantwortlich sind.

In den Sorptionsversuchen mit Tonmineralen und Humussäure soll die Sorptionskapazität bestimmter Bodeneinhaltsstoffe untersucht werden (Tab. 2.8).

Die mit Tonmineralen versetzten Abfalleluate werden dem MICROTOX™-, MUTATOX™- und dem Hemmtest nach OFFHAUS unterworfen. Versuche mit Humussäure-Zusatz werden aufgrund der starken Dunkelfärbung (s. dazu auch Kap. 2.1.3) mit Ausnahme eines Probeversuchs mit 202-IP9 nur mit dem Hemmtest nach OFFHAUS durchgeführt (Tab. 2.8).



**Tab. 2.8.** Einwaage der Tonminerale und des Humussäure-Natriumsalzes für Sorptionsversuche. Die jeweilige Vorverdünnung der Eluate findet sich in den Ergebnissen.

Substanzen	Einwaage [g/L]	Eingesetzte Testlösung	angewandte Tests
Bentonit	5  0,005; 0,05; 0,5; 5	202-IP9, 151-IP9, 153-IP21, 156-IP9 202-IP9 153-IP21	MICROTOX™  Sapromat Sapromat
Montmorillonit	5	202-IP9	Sapromat
Humussäure-Natriumsalz	3,5	202-IP9	MICROTOX™ (nur probeweise, starke Färbung), Sapromat
Bentonit / Humussäure-Natriumsalz	5 / 3,5	202-IP9	Sapromat
Montmorillonit / Humussäure-Natriumsalz	5 / 3,5	202-IP9	Sapromat

## 2.2.5 Regenwurmtests mit *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris* und *Lumbricus rubellus*

### 2.2.5.1 Testprinzip

Der Test wurde entwickelt, um die Wirkung toxischer Substanzen auf Regenwürmer in künstlichem Boden (artificial soil) zu testen, kann aber an natürlichen Boden adaptiert werden (OECD 1984, ISO 1993). Ziel des Tests ist die Ermittlung der Mortalität, des Wachstums und der Reproduktionsrate von *Eisenia fetida* Savigny 1826 bzw. der Mortalität und des Wachstums von *Lumbricus terrestris* Linnaeus 1758 und *Lumbricus rubellus* Hoffmeister 1843 bei der Aufnahme von Schadstoffen über die Haut oder die Nahrung im Boden.

### 2.2.5.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte

Regenwürmer (Lumbricidae) sind mit etwa 230 Arten über die gesamte nördliche gemäßigte Zone, einige Arten durch Verschleppung auch weltweit, verbreitet. Im nördlichen Mitteleuropa sind etwa 40 Arten nachgewiesen, wovon jedoch nur die Hälfte häufig und verbreitet ist (DUNGER 1983). Als Primärersetzer spielen Regenwürmer eine große Rolle im Ökosystem Boden. Durch ihre Grabaktivitäten wird der Boden gelockert und durchlüftet.

*Eisenia fetida* kommt in Norddeutschland in Mist oder Komposthaufen vor. In Süddeutschland sind Funde aus Laubwäldern bekannt. Die epigäische Art hat eine kurze Jugendentwicklung (3 – 4 Monate) und eine hohe Vermehrungsrate (26 Kokons à durchschnittlich 2,5 juvenile Tiere in zwei Monaten, HARTENSTEIN et al. 1979). Die Brutdauer beträgt durchschnittlich 16 Tage bei einer Temperatur von 25 °C (GRAFF 1953). Individuen für die Zucht wurden von der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig zur Verfügung gestellt. Die Tiere werden in einem Substrat aus Gartenerde, Torf und getrocknetem Pferdekot (1:1:1) gezüchtet und mit Rinderdung gefüttert. Die Regenwürmer müssen für den Test das Adultstadium erreicht haben, d. h. ein Clitellum besitzen.

Der anözische Regenwurm *Lumbricus terrestris* lebt in Wald-, Grün- und Ackerland, sofern die Böden tiefgründig sind. Die Art hat eine lange Jugendentwicklung (+/- 1 Jahr, je nach Umweltbedingungen, EDWARDS und BOHLEN 1996) und eine geringe Vermehrungsquote von 38 Kokons pro Jahr im Laborversuch bei 15 °C (BUTT 1993).

*Lumbricus rubellus* ist der wichtigste Streuzersetzer unter den Regenwürmern der Laubwälder. Die Lebensform dieser Art ist epigäisch, weist aber auch anözische Merkmale auf. *L. rubellus* produziert durchschnittlich 106 Kokons pro Jahr. Die Tiere haben eine Entwicklungszeit von ca. 53 Wochen (WILCKE 1952). Beide Arten werden bei der Firma Mosella Angelköder GmbH, Platten, bezogen und in LUFA 2.2 Boden gehältert. Das Futter besteht aus getrockneten Blättern von *Betula pubescens* (Birke) und *Carpinus betulus* (Hainbuche). Eine Woche vor dem eigentlichen Testbeginn werden die Regenwürmer zur Konditionierung in den schadstofffreien Testboden, der vorher mit Leitungswasser entsprechend einer Wasserhaltekapazität von 50% angefeuchtet wurde, gesetzt. Auch hier wird LUFA 2.2-Boden verwendet.

Als Testgefäße dienen Bellaplast-Schalen (rechteckig, 1L, Fa. Knust, Braunschweig).

Der Boden wird mit der jeweiligen Testlösung unter Verwendung einer Küchenmaschine (Kitchenaid, Fa. Hobart GmbH, Offenburg) 10 Minuten bei höchster Stufe gemischt.

Die Ermittlung und Überprüfung der Regenwurm- und Substratgewichte erfolgt mit einer Sartorius-Universal-Waage (Fa. Sartorius, Göttingen).

### **2.2.5.3 Testdurchführung**

Die Tests werden nach einem Entwurf der ‚International Standardization Organization‘ (ISO 1993) durchgeführt.

Einen Tag vor Testbeginn werden jeweils 500 g lufttrockener Boden mit 110 mL Testlösung und einer Kontrolle (Leitungswasser) sorgfältig mit Hilfe der Küchenmaschine vermischt. Diese Menge entspricht einer Wasserhaltekapazität des LUFA 2.2-Bodens von 50%. Die Testlösung wird in den Verdünnungen 0,5, 1, 10, 20 und 50 mL/L getestet. Für die Versuche

mit *E. fetida* werden am Tag des Testbeginns pro Testgefäß 10 zuvor gewogene Regenwürmer eingesetzt und 0,5 g getrockneter und gemahlener Rinderdung pro Individuum und Versuchswoche als Futter zugesetzt. Für den Versuch mit *L. rubellus* werden pro Testgefäß 2 – 3 zuvor gewogene adulte Individuen eingesetzt. Für den Versuch mit *L. terrestris* und *L. rubellus* werden 5 juvenile Individuen eingesetzt. Eine größere Anzahl einzusetzen, ist aufgrund der Größe der Tiere nicht ratsam. Die Lieferung dieser Regenwürmer enthielt hauptsächlich juvenile Stadien von *L. terrestris* und *L. rubellus*, die jedoch erst im Adultstadium zu unterscheiden sind. Aus diesem Grunde werden die Arten im Versuch mit den juvenilen Tieren gemischt eingesetzt. Als Futter werden pro Individuum 0,25 g getrocknete Hainbuchenblätter als erste Fütterung und 0,5 g getrocknete Birkenblätter als zweite Fütterung in der dritten Versuchswoche zugesetzt.

Die Testgefäße werden nicht ganz luftdicht verschlossen und gewogen. Es erfolgt eine Inkubation der Testgefäße bei 20 °C (*E. fetida*) bzw. 15 °C (*L. terrestris* und *L. rubellus*) im Dunkeln. Gewichtsverluste in den Testgefäßen werden durch Zugabe von dest. Wasser ausgeglichen. Nach 4 Wochen erfolgt die Auswertung durch Wiegen der Würmer und bei *E. fetida* zusätzlich durch Auszählen der Kokons. Als Testlösungen werden Q-Lauge Beienrode, IP21, IP21 dot., IP9 und 151-IP9 eingesetzt.

## **2.2.6 Collembolentests mit *Folsomia candida* und *Sinella coeca***

### **2.2.6.1 Testprinzip**

Subletale Wirkungen von Schadstoffen können die Geschlechtsreife, die Reproduktionsleistung, die Embryonalentwicklung, den Schlupf, die postembryonale Entwicklung und die Überlebensrate von Collembolen beeinflussen. Der hier durchgeführte Test erfaßt diese Effekte als Summenparameter. Die Methode ist, genauso wie der Regenwurmtest, für ‚artificial soil‘ entwickelt worden, kann aber ebenfalls auch mit natürlichem Boden durchgeführt werden.

### **2.2.6.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte**

Mit ca. 6500 beschriebenen Arten, massenhaftem Auftreten in den meisten terrestrischen Ökosystemen ( $10^4 - 10^5$  Individuen  $m^{-2}$ ) und weltweiter Verbreitung bilden die Collembolen die bei weitem größte Gruppe apterygoter Insekten (HOPKIN 1997). Als Bodenbewohner sind sie wesentlich an der Zersetzung pflanzlichen Materials beteiligt. Ihr auf sechs Segmente reduziertes Abdomen trägt einen wirkungsvollen Sprungapparat, der den 1 – 2 mm langen Tieren Sprünge von bis zu 50 cm Weite ermöglicht (WEHNER und GEHRING 1995).

Für die Tests werden *Folsomia candida* Willem 1902 (Isotomidae) und *Sinella coeca* (Schött 1896) (Entomobryidae) eingesetzt. *F. candida* weist einen kurzen Fortpflanzungszyklus auf, ist euedaphisch und hat weder Augen noch Pigmente. Beide Arten sind fungivor, fakultativ carnivor und parthenogenetisch (HOPKIN 1997).

Die Hälterung und Zucht der Collembolen erfolgt in einem Kühl-Brutschrank (Firma Heraeus) bei 20 °C im Dunkeln in Bellaplast-Gefäßen (rund, 250 mL, Firma Knust, Braunschweig) auf einem Aktivkohle-Gips-Gemisch. Dazu werden Gips und Aktivkohle im Verhältnis 9:1 gemischt und mit Wasser angerührt. Mit dieser Mischung werden die Plastikgefäße ungefähr 1/5 gefüllt. Nach dem Austrocknen der Gefäße an der Luft wird das Gemisch mit abgekochtem Wasser gesättigt, die Collembolen werden, nach Arten getrennt, eingesetzt und wöchentlich mit Trockenhefe gefüttert. Dabei wird gleichzeitig das Gefäß belüftet. Die Durchführung der Versuche erfolgt in den gleichen Plastikgefäßen wie die Zucht.

Für die Tests sollten möglichst gleichalte (10-12 Tage) Tiere zur Verfügung stehen. Dazu ist es notwendig, eine Synchronisationszucht anzusetzen (ISO 1994) indem ca. 60 möglichst ausgewachsene Tiere in ein Anzuchtgefäß gesetzt und nach 2 Tagen wieder entfernt werden. Die dort gelegten Eier werden bei 20 °C inkubiert, das mittlere Schlupfdatum wird ermittelt und 10 –12 Tage nach dem Schlupf können die Tiere im Test eingesetzt werden.

### 2.2.6.3 Testdurchführung

Die Tests werden nach einem Entwurf der ISO (1994) durchgeführt.

Für den Test mit *Folsomia candida* werden 50 g lufttrockener Boden pro Testansatz in die Plastikgefäße gegeben und mit 11 mL Testlösung, entsprechend 50% der WHK, in den Verdünnungsstufen 1, 2, 10, 20 und 50 mL/L sowie einer Kontrolle (Leitungswasser) in vier Parallelen sorgfältig vermischt. Nach einer Vorinkubationszeit von 24 h bei 20 °C im Dunkeln werden pro Testansatz 10 synchronisierte Collembolen eingesetzt und die Gefäße luftdicht verschlossen, so daß der Feuchtigkeitsverlust über den Testzeitraum von 28 Tagen vernachlässigbar bleibt. Die Testansätze werden regelmäßig kontrolliert, um Schimmel zu entfernen, Futter zu ersetzen (Trockenhefe *ad libitum*, z. B. SMIT und VAN GESTEL 1996) und um die Gefäße zu belüften. Zum Testende erfolgt eine Überführung des jeweiligen Testgefäßinhalts in einen 500 mL Becher. Der Boden wird vorsichtig mit Leitungswasser aufgeschwemmt. Die Collembolen besitzen eine hydrophobe Cuticula, schwimmen daher auf der Wasseroberfläche und können ausgezählt werden.

Die Versuche mit *Sinella coeca* werden grundsätzlich genauso durchgeführt wie die Versuche mit *Folsomia candida*, jedoch gibt es folgende Unterschiede: Pro Testansatz werden nur 5 Individuen eingesetzt. Da die Reproduktionsrate von *Sinella coeca* wesentlich geringer ist als diejenige von *Folsomia candida*, stehen nach der Synchronisation meist nur wenige

gleichalte Tiere zur Verfügung. Zudem hat *Sinella coeca* eine längere Generationsdauer, so daß die Versuchsdauer auf 5 Wochen ausgeweitet wird.

### 2.2.7 Versuche mit *Folsomia candida* und verschiedenen Salzen

In Versuchen mit *Folsomia candida* und verschiedenen Salzlaugen sollen die in den Collemboleltests mit den IP9-Laugen aufgetretenen Salzeffekte (s. Kap. 3.6.1) genauer untersucht werden, da diese Ergebnisse zu der Erkenntnis führen, daß unterschiedliche Salze verschiedener Schwermetalle (z. B. Chloride, Sulfate, Nitrate) sehr unterschiedliche Effekte hervorrufen können. Diese Effekte werden weitergehend untersucht.

**Tab. 2.9.** Konzentrationen der in den Tests eingesetzten Salze, resultierend aus der auf 50 mL/L verdünnten IP9-Lauge. Angegeben sind die Konzentration der Salze in dest. Wasser in mmol/L (Konzentration in der Lösung) und die Konzentration bezogen auf das Testsubstrat (LUFA 2.2 Boden) bei Verwendung von 50 g Boden und 11 g Testlösung entsprechend 50 % der WHK des LUFA 2.2 Bodens. Maximale WHK: 44 g/100 g Trockenmasse. Diese Angaben erfolgen in mmol/kg Trockenbodengewicht und g/kg Trockenbodengewicht.

Salz	Konzentration in der Lösung [mmol/L]	Konzentration bezogen auf Testsubstrat	
		mmol/kg	g/kg
CaSO <sub>4</sub>	0,24	0,052	0,007
MgSO <sub>4</sub>	17,1	3,8	0,453
MgCl <sub>2</sub>	31,8	7	0,667
KCl	40,7	9	0,669
NaCl	197,8	43,5	2,543
gesamt	289,6	63,3	4,34

Die Testdurchführung erfolgt wie unter Kap. 2.2.6.3 beschrieben. Als Testlösungen werden jedoch, neben verdünnter IP9-Lauge, Lösungen mit den in der IP9-Lösung enthaltenen Salzen verwendet. Die Salze werden einzeln in den der IP9-Lösung bei einer Verdünnung von 50 mL/L entsprechenden Konzentrationen eingewogen (Tab. 2.9), in der für den Collemboleltest notwendigen Menge dest. Wasser gelöst und wie oben beschrieben getestet.

Für die Versuche mit auf 50 mL/L verdünnter IP9-Lösung werden neben dem in den übrigen Versuchen eingestellten Wassergehalt von 50 % der WHK des LUFA 2.2 Bodens zwei Varianten mit Wassergehalten entsprechend einer Wasserhaltekapazität von 45 bzw. 55 % angesetzt. Die verschiedenen Salzgehalte finden sich in Tab. 2.10.

**Tab. 2.10.** Salzkonzentration in mmol/kg Boden in den Tests mit *Folsomia candida* bei unterschiedlichen Wassergehalten des Testbodens (% WHK). Maximale WHK des LUFA 2.2 Bodens: 44 g/100 g (SCHRADER et al. 1998).

Verdünnung der IP9-Lösung [mL/L]	% WHK		
	45	50	55
2	2,3	2,5	2,8
10	11,5	12,7	13,8
20	23	25,3	27,6
50	57,5	63,3	69

Desweiteren werden folgende Salze in den in Tab. 2.11 aufgeführten Konzentrationen getestet: Aluminiumchlorid, Aluminiumsulfat, Calciumchlorid, Calciumnitrat, Calciumsulfat, Cobalt(II)chlorid, Cobalt(II)nitrat, Cobalt(II)sulfat, Eisen(III)chlorid, Eisen(II)sulfat, Kupfer(II)chlorid, Kupfer(II)sulfat, Magnesiumchlorid, Magnesiumsulfat, Mangan(II)chlorid, Mangan(II)sulfat, Natriumchlorid, Natriumsulfat, Strontiumchlorid, Zinksulfat, Zinn(II)chlorid. Die Salze werden in dest. Wasser (11 mL/50 g Boden) gelöst und mit LUFA 2.2 Boden vermengt. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit von Calciumsulfat (2 g/L bei 20 °C)

Die Chloride werden so eingewogen, daß immer 1,54 g Cl/kg Boden enthalten sind. Die Sulfate und Nitrate werden so eingewogen, daß der Kationengehalt demjenigen der Chloride entspricht. Beispiel: Die eingewogene Menge Eisen(III)chlorid enthält 1,54 g Cl/kg Boden und 0,809 g Eisen/kg Boden. Eisen(II)sulfat wird dann so eingewogen, daß der Eisengehalt dem des Eisen(III)chlorids entspricht.

Natriumsulfat wird in zwei Konzentrationen getestet: in 3,1 g Natriumsulfat sind entsprechend der eingesetzten Natriumchlorid-Konzentration 1 g Natrium enthalten. 6,18 g Natriumsulfat entsprechen, wie die eingesetzte Natriumchlorid-Konzentration, 43,5 mmol/kg Trockenbodengewicht.

Magnesiumchlorid und –sulfat werden außerdem so eingewogen, daß das Magnesium in gleicher Konzentration wie in den Einzelansätzen vorliegt, das Chlorid aber deutlich niedriger konzentriert ist, zur Untersuchung eines eventuellen Magnesiumeffektes.

Umgekehrt werden Calcium-, Magnesium- und Natriumchlorid so eingewogen, daß der Chloridgehalt dieser drei Salze zusammen dem Chloridgehalt im Natriumchlorid-Einzelansatz (1,54 g Chlorid/ kg Trockenbodengewicht) entspricht (Tab. 2.11). Durch die dadurch bedingte geringere Konzentration der einzelnen Kationen soll der Effekt, der durch das Chlorid-Ion hervorgerufen wird, weiter eingegrenzt werden.

**Tab. 2.11.** Einwaage der Salze für die Collembolentests mit *Folsomia candida* und verschiedenen Salzen bezogen auf 1 kg Testboden.

Salz	g/kg Boden
$\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	3,50
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$	4,82
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	3,19
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	5,13
$\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	3,74
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	5,18
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2$	6,35
$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	6,13
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	3,70
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	5,42
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	3,92
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	4,00
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	4,42
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	5,36
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O} + \text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	2,21 + 2,68
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	4,3
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3,68
$\text{NaCl}$	2,54
$\text{NaCl} + \text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O} + \text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,85 + 1,47 + 1,06
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	3,1 6,18
$\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	4,90
$\text{SrCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	5,79
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	4,40

### 2.2.8 Kontakt-Papier-Test (‘filter paper contact test’) mit Collembolen

Der Kontakt-Papier-Test dient als schnell durchführbarer Screeningtest und ist sehr einfach in der Handhabung. Er wird durchgeführt in Anlehnung an den ‘filter paper contact test’ mit *Eisenia fetida* (OECD 1984).

Filterpapiersegmente (Schleicher und Schüll) werden mit Testlösung in verschiedenen Verdünnungsstufen bzw. Leitungswasser als Kontrolle getränkt und in einer Glaspetrischale mit

einem Durchmesser von 25 cm sternförmig und zufällig angeordnet. In die filterpapierfreie Mitte werden 100 – 200 Collembolen gesetzt. In bestimmten Zeitabständen erfolgt eine Auszählung, bei welcher Konzentration sich wieviele Individuen aufhalten. Als Testorganismen dienen *Ceratophysella (Hypogastrura) denticulata* (Bagnall, 1941) (Hypogastruridae), *Folsomia candida* und *Sinella coeca*. Der Test wird mit Q-Lauge Beienrode vor und nach Bodenbehandlung, 151-IP9 und 204-IP9 durchgeführt.

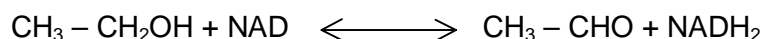
## 2.2.9 Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität

### 2.2.9.1 Testprinzip

Die Dehydrogenase-Aktivität (DHA) dient als Indikator für biologische Redoxsysteme und kann als Maß für die Intensität mikrobieller Stoffumsetzungen im Boden angesehen werden (TABATABAI 1982). Durch Schadstoffe können mikrobielle Stoffumsetzungen im Boden gestört werden. Dieses kann durch die Bestimmung der DHA ermittelt werden. Das zu testende Bodenmaterial wird mit 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid versetzt, welches als Wasserstoffakzeptor fungiert. Durch katalytische Wirkung der Dehydrogenasen entsteht neben HCl rotes Triphenyltetrazoliumformazan (TPF), dessen Extinktion nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz photometrisch bestimmt werden kann.

### 2.2.9.2 Verwendete Testorganismen, Chemikalien und Geräte

Dehydrogenasen gehören zu den Oxidoreduktasen und bewirken durch Abspaltung von zwei Wasserstoffatomen die Oxidation organischer Verbindungen. Der abgespaltene Wasserstoff kann von vielen spezifischen Dehydrogenasen auf NAD und NADP übertragen werden. Durch diese Co-Enzyme wird der Wasserstoff in die Atmungskette eingeschleust oder ist an reduktiven Vorgängen von Biosyntheseprozessen beteiligt.



Die Dehydrogenaseaktivität (DHA) eines Bodens resultiert aus der Aktivität verschiedener Dehydrogenasen, welche ein wesentlicher Bestandteil des Enzymsystems sämtlicher Mikroorganismen sind. Dehydrogenasen stellen Enzyme des Atmungsstoffwechsels, des Citratzyklus und des Stickstoff-Stoffwechsels dar.

Zur Bestimmung der DHA werden 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung (TTC, 0,5 %-ig in 0,1 M Trispuffer aus Trishydroxymethylaminomethan; pH 7,8 für saure Böden) und Aceton



benötigt. Die Inkubation erfolgt in einem Brutschrank (WTB Binder), anschließend wird zur Bestimmung der Extinktion ein Photometer (Milton Roy, Spectronic 301) verwendet.

### 2.2.9.3 Testdurchführung

Bei der hier verwendeten Methode nach THALMANN (1968) und SCHINNER et al. (1993) modifiziert und standardisiert nach MALKOMES (1993), werden 20 g lufttrockener LUFA 2.2 Boden mit 4 mL Leitungswasser (Kontrolle) bzw. Schadstofflösung (entsprechend 50 % der WHK) sorgfältig verrührt und über 4 Tage bei 20 °C im Dunkeln inkubiert, um eine gleichmäßige Verteilung und Konditionierung zu erreichen. Anschließend wird jeweils 1 g des vorbereiteten Bodens in 3 Parallelen mit 2 mL TTC-Lösung versetzt. Ein dazugehöriger vierter Ansatz wird nur mit Trispuffer versetzt (Acetonblindwert). Die Ansätze werden 24 Stunden bei 30 °C im Brutschrank inkubiert. Das entstehende Triphenyltetrazoliumformazan wird mit jeweils 5 mL Aceton extrahiert und dessen Extinktion gegen den zugehörigen Acetonblindwert ohne TTC bei 546 nm im Spektralphotometer gemessen. Mit Hilfe einer aus einer Eichgeraden resultierenden Formel ( $\text{Ablesewert} \cdot 1000 / 2,06 = \text{Konz. TPF} [\mu\text{g TPF} / \text{g TS}]$ ) den Extinktionswerten und dem Wassergehalt der Bodenprobe kann die Konzentration des TPF – und damit die DHA – bestimmt werden.

Der Test wird mit IP9, 151-IP9, 204-IP9, 156-GW und Q-Lauge Beienrode in den Verdünnungen 1, 2, 10 und 50 mL/L durchgeführt.

Ein weiterer Versuch wird mit IP9 (50 mL/L), 150-IP9 (10 und 50 mL/L) und 204-IP9 (10 und 50 mL/L) durchgeführt, wobei zunächst jeweils 100 g Boden und 22 g Testlösung (50% WHK) ohne weitere Zusätze im Saproamat getestet werden. Anschließend erfolgt die Bestimmung der DHA.

### 2.2.10 Weitere Tests

#### 2.2.10.1 Tests mit *Artemia salina*

##### Testprinzip und Durchführung

In diesem Test werden die Fortpflanzung und Entwicklung von *Artemia salina* unter Schadstoffeinfluß untersucht.

IP9-Lauge wird auf 50 mL/L verdünnt. Damit wiederum wird die Schadstofflösung auf 1 mL/L und 2 mL/L verdünnt. Als Kontrolle dient die auf 50 mL/L verdünnte IP9-Lauge.

Zu den Testansätzen werden Eier von *Artemia salina* gegeben (Sanders Brine Shrimp Company Inc., Ogden, Utah, USA). Die Ansätze werden unter Belüftung in der Klimakammer bei 20 °C inkubiert. Die geschlüpften Individuen werden mit *Dunaliella spec.* und *Cryptomonas*

*spec.* gefüttert. Regelmäßig werden Entwicklung und Überlebensrate der Testorganismen überprüft. Der Test wurde aufgrund von Schimmelbefall nach zwei Wochen abgebrochen. Die Durchführung erfolgte nur mit 202-IP9.

#### **2.2.10.2 Tests mit *Isotoma viridis***

##### **Testprinzip und Durchführung s. Kap. 2.2.6.**

Als Testorganismus wird anstelle von *Folsomia candida* die halophile Collembolenart *Isotoma viridis* Bourlet 1839 (Isotomidae) eingesetzt.

Für diesen Test wird versucht, die Tiere auf salzhaltigem Gips-Aktivkohle-Substrat entsprechend 50 mL/L IP-Lauge zu züchten. In einem weiteren Versuchsansatz werden auf üblichem Gips-Aktivkohlesubstrat gezüchtete Individuen in mit 50 mL/L IP-Lauge versetzten Boden (wie unter 2.2.6.3) gesetzt. Nach 28 Tagen erfolgt die Bestimmung der Fortpflanzungs- und Überlebensrate.

### 3. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Leuchtbakterientests werden als  $EC_{50}$ -Werte angegeben, die diejenigen Konzentrationen bezeichnen, bei der 50% der Organismen durch die Testsubstanz in Bezug auf den/die Testparameter geschädigt bzw. beeinflusst werden, oder der getestete Parameter um 50% gegenüber der Kontrolle abnimmt o. ä. Je niedriger der Wert, umso höher die Toxizität. Um in den Abbildungen zu umgehen, daß niedrige Säulen eine hohe Toxizität anzeigen, wird statt des  $EC_{50}$ -Wertes die Verdünnungsstufe des Eluats angegeben, die  $EC_{50}^{-1} \cdot 10^3$  entspricht; oder anders ausgedrückt: eine Verdünnung von 20 mL/L entspricht 1:50 und damit Verdünnungsstufe 50. Für die Ergebnisse, die sowohl im Text als auch in den Abbildungen erscheinen, werden im Text beide Werte ( $EC_{50}$  und Verdünnungsstufe) angegeben.

Zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse des Leuchtbakterientests (Abb. 3.1) mit dem Hemmtest nach OFFHAUS wird in einer Übersichts-Abbildung der Ergebnisse des Hemmtests nach OFFHAUS (Abb. 3.2) ebenfalls diese Darstellungsform gewählt. Hier können jedoch nur ungefähre Verdünnungsstufen angegeben werden, da im Hemmtest nach OFFHAUS keine konkreten  $EC_{50}$ -Werte, sondern der Grad der Hemmung des mikrobiellen Sauerstoffverbrauchs in den einzelnen getesteten Verdünnungen bestimmt wurde. Für die weitere Darstellung der Ergebnisse und Abbildungen des Hemmtests nach OFFHAUS wird die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs prozentual gegenüber der Kontrolle angegeben.

Die Ergebnisse der Collembolentests werden ebenfalls prozentual dargestellt. Hier wird der Mittelwert der Collembolen-Zahl in der Kontrolle = 100% gesetzt, um eine (optische) Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Collembolentests zu erzielen. Im Kontakt-Papier-Test ist die Verteilung der Collembolen in Prozent der insgesamt eingesetzten Collembolen dargestellt. Die Ergebnisse der weiteren Tests sind in absoluten Zahlen angegeben.

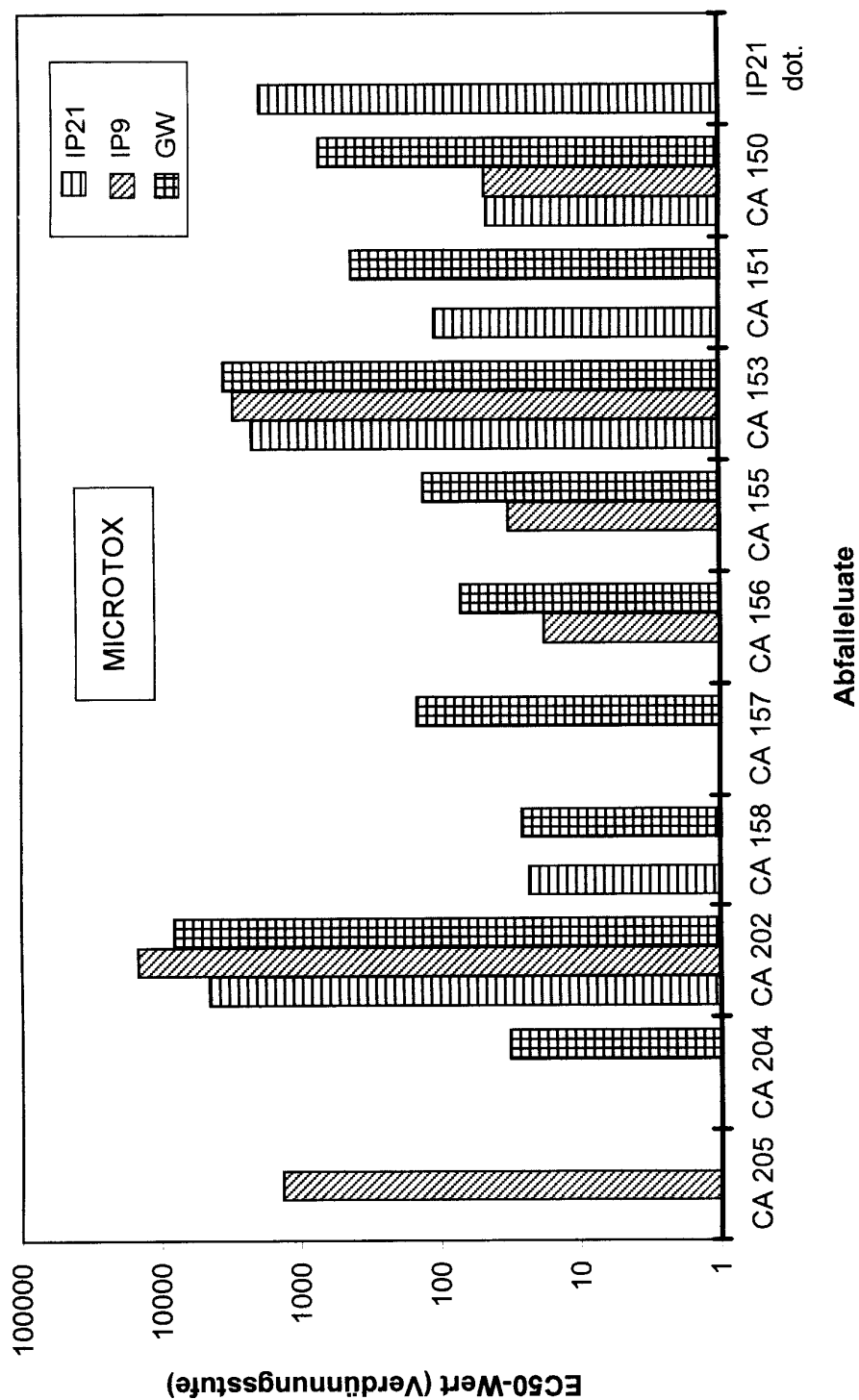
Am Ende des Kapitels findet sich eine Zusammenfassung der Ergebnisse (Tab. 3.7).

#### 3.1 Leuchtbakterientest MICROTOX™

Die Ergebnisse der Leuchtbakterientests zeigen Abb. 3.1 und Tab. A.2 im Anhang.

Sehr stark toxisch wirken die Eluate von CA 202, gefolgt von CA 153, 205-IP9 und IP21-dot. Im Bereich starker Toxizität liegen 157-GW, 156-GW, 155-GW, 151-IP21, 151-GW und 150-GW.

Die Eluate 204-GW, 158-IP21, 158-GW, 156-GW, 156-IP9, 155-IP9, 150-IP21 und 150-IP9 sind ebenfalls toxisch, aber hier sind höhere Konzentrationen notwendig, um einen  $EC_{50}$ -Wert zu erreichen.



**Abb. 3.1.** Ergebnisse der Leuchtbakterientests mit den Abfalleluats. Die  $EC_{50}$ -Werte sind zur Verdeutlichung der Toxizität in die jeweilige Verdünnungsstufe umgerechnet ( $EC_{50}^{-1} \cdot 10^3$ ). Nicht leuchtbakterientoxisch sind: 158-IP9, 157-IP9, 155-IP21, 151-IP9, IP9 und IP21. Die Eluate 157-IP9 und 151-IP9 wirken stimulierend auf die Lichtemission. Kein  $EC_{50}$  kann für 157-IP21 ermittelt werden. 156-IP21 nicht vorhanden, 204-IP21, 204-IP9, Q-Lauge Beienrode nicht bestimmt. Höchste getestete Konzentration: 50 mL/L, darüberliegende Werte durch Extrapolation erhalten.

Die Elutionsmittel IP9 und IP21 sind im getesteten Konzentrationsbereich (max. 50 mL/L) nicht leucht bakterientoxisch. Ebenso nicht toxisch sind die Eluate 158-IP9, 157-IP9, 155-IP21 und 151-IP9. Die Eluate 157-IP9 und 151-IP9 rufen sogar eine Stimulation der Lichtemission hervor. Diese ist gegenüber der Kontrolle für 157-IP9 um 61% (Korrekturfaktor  $fK^1 = 0,8614$ ) und für 151-IP9 um 14,9% ( $fK = 1,031$ ) erhöht. Die Werte ergeben sich aus Gleichung (1), wenn der Wert für die Hemmung (% Hemmung) im negativen Bereich liegt und entsprechen, mit geändertem Vorzeichen, der Stimulation. Für das Eluat 157-IP21 kann kein  $EC_{50}$  ermittelt werden. Das Eluat wird in der höchsten sinnvollen Konzentration getestet (Ausgangskonzentration 100 mL/L, höchste meßbare Konzentration damit 50 mL/L). Wegen der Vorverdünnung der schadstofffreien IP21-Lauge auf 100 mL/L ist es nicht sinnvoll, die Eluate höher konzentriert zu vermessen, da kein Vergleich mit der schadstofffreien IP-Lauge möglich wäre. Jedoch kann der zur höchsten gemessenen Konzentration gehörige  $EC_x$  nach Gleichung (1) ermittelt werden (MICROTOX™ Formeln 1995). Es ergibt sich daraus für 50 mL ein  $EC_{10}$  ( $fK = 0,661$ ).

$$\frac{(I_{0x(1)} + I_{0x(2)})}{2} = I_{0x}$$

$$\frac{(I_{tx(1)} + I_{tx(2)})}{2} = I_{tx} \quad \text{Gleichung (1)}$$

$$100 - \left( \frac{I_{tx} \cdot 100}{I_{0x} \cdot fK} \right) = \% \text{ Hemmung}$$

mit  $I_{0x}$  = Ausgangsleuchten ohne Schadstoffeinwirkung, berechnet aus zwei Ansätzen  $I_{0x(1)}$  und  $I_{0x(2)}$  bei Konzentration x.

$I_{tx}$  = Lichtemission der Bakterien nach Zusatz der Testlösung und Kontaktzeit von 30 min, berechnet aus zwei Ansätzen  $I_{tx(1)}$  und  $I_{tx(2)}$  bei Konzentration x.

$fK$  = Korrekturfaktor, berechnet aus dem Ausgangsleuchten der Kontrolle und der Lichtemission der Kontrolle nach 30 min Standzeit

$\% \text{ Hemmung}$  = Hemmung der Lichtemission bei Konzentration x.

Mit 153-GW und 153-IP9 werden Vergleiche zwischen neutralisierter und nicht neutralisierter Testlösung durchgeführt (HAUSER 1996). In beiden Fällen ist das neutralisierte Eluat toxischer, als das nicht neutralisierte (s. Tab. A.2 im Anhang).

<sup>1</sup> Der Korrekturfaktor ergibt sich durch die Anwendung der MICROTOX™-Software und wird bei Ermittlung des  $EC_{50}$  automatisch berechnet.

156-IP9 liegt mit einem  $EC_{50}$  von 55,25 mL/L (95%-Vertrauensbereich: 48,86 – 62,48 mL/L), Verdünnungsstufe 18, in einem Bereich mittlerer bis schwacher Toxizität. Da es sich u. a. bei den Eluaten von CA 156 um Proben mit erhöhtem organischem Kohlenstoffgehalt handelt, wird versucht, die organischen Bestandteile mit Heptan im Verhältnis 10:1 aus 156-IP9 zu extrahieren. Dazu werden 50 mL des auf 100 mL/L verdünnten 156-IP9-Eluats mit 5 mL Heptan 15 min gerührt. Die wässrige Phase wird mittels Scheidetrichter abgetrennt und im Leuchtbakterientest ohne OAS gemessen. Der  $EC_{50}$ -Wert des mit Heptan extrahierten Eluats liegt mit 31,87 mL/L (95%-Vertrauensbereich: 29,84 – 34,04 mL/L), Verdünnungsstufe 31, noch deutlich unterhalb desjenigen des nicht extrahierten Eluats. Eine Extraktion toxischer Inhaltsstoffe erfolgt also offensichtlich nicht.

Die Toxizität von 204-GW spiegelt nicht die tatsächlichen Verhältnisse wider, da das Eluat wegen seines niedrigen pH-Wertes, der unverdünnt bei 1,6 liegt, neutralisiert werden muß. Dabei kommt es zu sehr starken Ausfällungen, die möglicherweise eine Verringerung der Toxizität des Überstandes zur Folge haben.

Auffällig sind die zum Teil deutlichen Unterschiede, die die verschiedenen Elutionsmittel hervorrufen. Besonders deutlich wird dieses an den Eluaten des Abfalls CA 158, dessen Grundwasser- und IP21-Eluat toxisch sind, während 158-IP9 nicht toxisch ist, sowie an den Eluaten des Abfalls CA 157. Hier ist nur 157-GW deutlich toxisch. Von CA 155 dagegen ist nur 155-IP21 nicht toxisch.

### 3.2 Gentoxizitätstest MUTATOX™

Bis auf 158-GW und 153-GW sind alle getesteten Eluate, das sind alle Eluate von CA 202 und CA 155, 205-IP9, 157-GW, 156-IP9, 156-GW, 153-IP21 und 153-IP9, mutagen (Tab. 3.1), wobei es Unterschiede bei Verwendung der beiden Medien (ohne S9 oder mit S9) gibt. Bei einigen Eluaten kommt es mit einem der beiden Medien nur zu einer geringen Erhöhung der Lichtemission, die zwar deutlich ist und auch die Lumineszenz der Medienkontrollen um mindestens das Doppelte übersteigt, aber im Vergleich zum entsprechenden Eluat mit dem jeweils anderen Medium wesentlich niedriger ausfällt. Diese Eluate sind in Tab. 3.1 mit (gering) gekennzeichnet. Es handelt sich um die Eluate 205-IP9, 202-IP9 und 202-GW.

Das Eluat 155-IP21 zeigt sowohl ohne als auch mit S9 nur eine geringfügig erhöhte Lichtemission bei 50 bzw. 25 – 50 mL/L. 202-IP21 und 153-IP21 sind ohne S9 mutagen, mit S9 dagegen nicht. Umgekehrt ist 157-GW mit S9 mutagen, ohne jedoch nicht.

Die im MUTATOX™-Test gentoxisch wirkenden Konzentrationen liegen im allgemeinen deutlich über den  $EC_{50}$ -Werten aus den Leuchtbakterientests (s. Anhang Tab. A. 2). Ausnahmen bilden nur die Eluate von CA 202, bei denen leuchtbakterien- und gentoxischer Konzentrationsbereich ungefähr gleich sind (um 0,1 mL/L) und 156-IP9, bei dem der gento-

xische Bereich deutlich unter dem leuchtbakterientoxischen Bereich liegt. Mit Hilfe der Messung der optischen Dichte in den MUTATOX™-Testküvetten nach Testende kann die Leuchtbakterientoxizität im MUTATOX™-Test abgeschätzt werden. Die Ergebnisse zeigen, daß sich die im Leuchtbakterientest festgestellte Toxizität im allgemeinen sehr deutlich von der im MUTATOX™-Test festgestellten unterscheidet und in der Regel wesentlich niedriger ist. (Tab. A.3 und A.4 im Anhang, vergl. dazu auch Tab. A.2). Diese ist gegenüber den darunterliegenden Konzentrationen bei 202-IP9 mit S9 ab einer Konzentration von 0,5 mL Eluat/L reduziert, ohne S9 ab 1 mL/L. Die optische Dichte von 202-IP21 ist nur mit S9 ab 2 mL/L reduziert. Die Eluate 205-IP9 und 155-IP9 verursachen nur mit S9 ab 50 mL/L eine Verringerung der optischen Dichte. 153-IP9 reduziert die optische Dichte ab 50 mL/L, 153-IP21 ab 25 mL/L (beide mit und ohne S9). In den Eluaten 202-GW, 158-GW, 157-GW, 156-GW, 156-IP9, 155-GW, 155-IP21 und 153-GW kann im getesteten Konzentrationsbereich keine Verringerung der optischen Dichte festgestellt werden.

**Tab. 3.1.** Ergebnisse der MUTATOX™-Tests. Angegeben sind die mutagenen, noch nicht leuchtbakterientoxischen Konzentrationen der Eluate ohne S9- und mit S9-Mix sowie der getestete Konzentrationsbereich. Bei einigen Eluaten kommt es mit einem der beiden Medien (mit S9 oder ohne S9) nur zu einer geringen Erhöhung der Lichtemission, die im Vergleich zum entsprechenden Eluat mit dem jeweils anderen Medium wesentlich niedriger ausfällt. Diese Eluate sind mit (gering) gekennzeichnet.

Eluat	mutagener Konzentrationsbereich [mL/L] ohne S9	mutagener Konzentrationsbereich [mL/L] mit S9	getesteter Konzentrationsbereich [mL/L]
<b>205-IP9</b>	25 – 50	1,6 – 6,3 (gering)	0,1 – 50
<b>202-IP21</b>	0,125 – 0,5	nicht mutagen	0,004 – 2
<b>202-IP9</b>	0,063 – 0,125	0,25 (gering)	0,004 – 2
<b>202-GW</b>	0,125 – 0,5	0,25 – 0,5 (gering)	0,004 – 2
<b>158-GW</b>	nicht mutagen	nicht mutagen	0,1 – 50
<b>157-GW <sup>1)</sup></b>	nicht mutagen	6,3 – 50	0,1 – 50
<b>156-IP9</b>	1,56 - 25	1,56 – 25	0,1 – 50
<b>156-GW</b>	3,13 - 25	3,13 – 25	0,1 – 50
<b>155-IP21 <sup>1)</sup></b>	50 (gering)	25 – 50 (gering)	0,1 – 50
<b>155-IP9 <sup>1)</sup></b>	3,1 – 50	3,1 – 50	0,1 – 50
<b>155-GW</b>	1,56 – 12,5	3,13 – 12,5	0,1 – 50
<b>153-IP21 <sup>1)</sup></b>	12,5 - 25	nicht mutagen	0,1 – 50
<b>153-IP9 <sup>1)</sup></b>	25	0,39 – 6,25	0,1 – 50
<b>153-GW <sup>1)</sup></b>	nicht mutagen	nicht mutagen	0,1 – 50

1) neutralisiert

155-GW stimuliert das Wachstum der mutierten Leuchtbakterien bei 25 und 50 mL/L unter Zusatz von S9.

Es gibt auch im MUTATOX™-Test wiederum deutliche Unterschiede zwischen den jeweiligen Eluaten mit den verschiedenen Elutionsmitteln. So sind die IP-Eluate von CA 153 mutagen, das Grundwasser-Eluat dagegen nicht.

### **3.3 Hemmtest nach OFFHAUS (Sapromatversuche)**

Im Hemmtest nach OFFHAUS (Abb. 3.2 und Tab. A.5 im Anhang) sind alle Eluate von CA 202 und CA 153 toxisch. Auch 205-IP9, 204-IP9, 157-GW sowie IP21- und Grundwassereluate von CA 151 und CA 150, IP21-dot. und Q-Lauge Beienrode wirken toxisch auf die Abwasser-Mikroorganismen. Von diesen aufgeführten Eluaten sind 204-IP9, 202-IP9, 202-GW sowie 153-GW am stärksten toxisch.

158-IP21, 158-IP9, 157-IP21 und 156-IP9 hemmen den Sauerstoffverbrauch der Abwasser-Mikroorganismen nur leicht (kein  $EC_{50}$ ). (Trotz des hohen Eisengehaltes in 204-IP9 findet kein anorganischer Sauerstoffverbrauch statt.)

Die Eluate 204-IP21 und 204-GW wurden nicht getestet (s. o.).

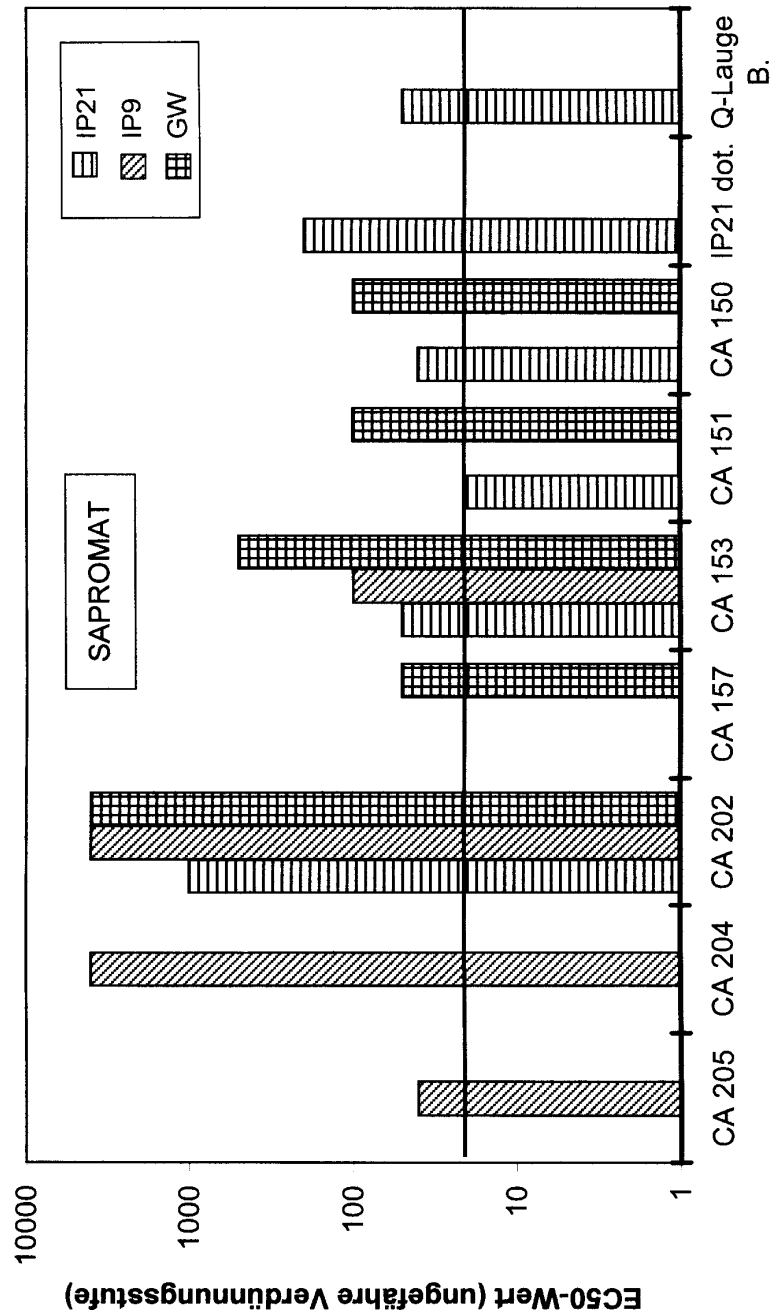
156-GW, 155-IP9, 155-GW und 150-IP9 rufen eine Stimulation des Sauerstoffverbrauchs hervor. 157-GW und 156-IP9 stimulieren den Sauerstoffverbrauch zunächst und hemmen ihn in höheren Konzentrationen.

Die Eluate 158-GW, 157-IP9, 155-IP21 und 151-IP9 sind weder toxisch für die Abwasser-Mikroorganismen noch rufen sie eine Stimulation hervor.

Die schadstofffreien Elutionsmittel IP9 und IP21 wirken erst ab einer Konzentration von 100 mL/L hemmend auf den Sauerstoffverbrauch. Bei dieser Konzentration hemmt IP9 den Sauerstoffverbrauch um 77%, IP21 um 44% im Vergleich zur Kontrolle.

In einem Zusatzversuch wird die pH-Toleranzbreite der Abwasser-Mikroorganismen untersucht. Bei pH 3,0 ist der Sauerstoffverbrauch um 76% gehemmt, bei pH 4,0 noch um 27%. Ein pH-Wert von 4,5 ruft dagegen keine Hemmung mehr hervor. Bis pH 10 wird der Sauerstoffverbrauch nicht gehemmt, ab pH 10,5 kommt es zu einer deutlichen Hemmung. Bei pH 12 wird der Sauerstoffverbrauch um 96% gehemmt. Der pH-Toleranzbereich liegt also zwischen pH 4,5 und 10. Das gilt zumindest für die verwendeten, nicht mit Schadstoffen belasteten Abwasser-Mikroorganismen. Durch Einwirkung von Schadstoffen auf die Mikroorganismen kann der Toleranzbereich eventuell kleiner werden.





**Abb. 3.2.** Ergebnisse der Hemmtests nach OFFHAUS mit den Abfalleluaten. Die  $EC_{50}$ -Werte wurden anhand der Hemmung des Sauerstoffverbrauchs abgeschätzt und sind zur Verdeutlichung der Toxizität in die jeweilige Verdünnungsstufe umgerechnet ( $EC_{50}^{-1} \cdot 10^3$ ). Nicht Abwasser-Mikroorganismen-toxisch sind die Eluate 158-GW, 157-IP9, 155-IP21 und 151-IP9. Nicht Abwasser-Mikroorganismen-toxisch aber stimulierend wirken 156-GW, 155-IP9, 155-GW und 150-IP9. Die Eluate 157-GW und 156-IP9 wirken in niedrigeren Konzentrationen stimulierend, in höheren Konzentrationen hemmend auf den Sauerstoffverbrauch. Für 158-IP21, 158-IP9, 157-IP21 und 156-IP9 kann kein  $EC_{50}$  ermittelt werden. Die durchgehende Linie zeigt die höchste getestete Konzentration an (50 mL/L). IP9 und IP21 wirken nur in hoher Konzentration (100 mL/L) hemmend auf den Sauerstoffverbrauch der Abwasser-Mikroorganismen.

### 3.4 Sorptionsversuche

#### 3.4.1 MICROTOX-Test

##### 3.4.1.1 Bodenbehandlung

Die Auswirkungen der Bodenbehandlung auf die Leuchtbakterientoxizität der Eluate zeigen Abb. 3.3 auf S. 44 und Tab. A.6 im Anhang. Die Toxizität nahezu aller Abfalleluate wird gegenüber derjenigen der unbehandelten Eluate deutlich reduziert. Eine Ausnahme bildet das IP9-Eluat mit CA 156, bei dem die  $EC_{50}$ -Werte vor und nach der Bodenbehandlung im gleichen Bereich liegen, der Wert nach der Bodenbehandlung ist sogar noch etwas niedriger (vorher: 55,25 mL/L; 95%-Vertrauensbereich: 48,86 – 62,48 mL/L, Verdünnungsstufe 18; nachher: 45,45 mL/L; 28,24 – 73,16, Verdünnungsstufe 22). Nur geringfügig weniger toxisch nach der Bodenbehandlung sind 156-GW und 155-GW.

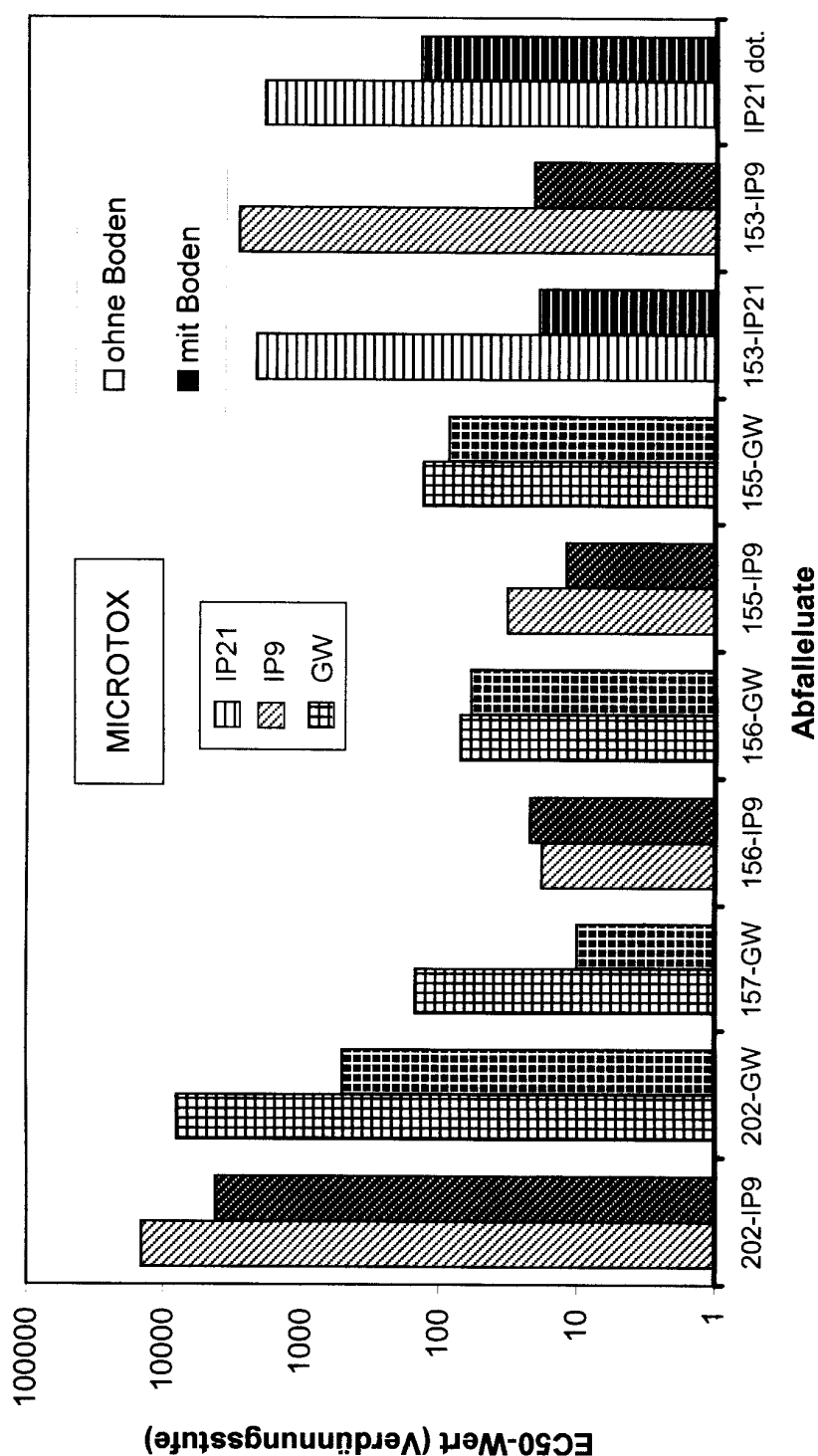
Nicht mehr toxisch nach Bodenbehandlung sind alle Eluate von CA 158, 157-IP9 und 157-IP21, 153-GW, 151-IP9 und 151-GW und alle Eluate von CA 150. 202-GW ist bei Vorverdünnung auf 1 mL/L nicht mehr leuchtbakterientoxisch nach der Bodenbehandlung. Nach Vorverdünnung auf 2 mL/L liegt der  $EC_{50}$ -Wert dagegen schon bei 2,0 mL/L. Vorverdünnt auf 5 mL/L ist 153-IP21 nicht mehr toxisch; eine Vorverdünnung auf 50 mL/L dagegen resultiert in einem  $EC_{50}$ -Wert von 52,9 mL/L.

Die Eluate 151-GW, 151-IP9, 150-GW und 150-IP9 verursachen eine Stimulation der Lichtemission. Berücksichtigt man die Korrekturfaktoren, liegt diese Stimulation für 151-GW bei 22% (Konzentration des Eluats: 11,25 mL/L;  $fK = 0,9281$ ), für 151-IP9 bei 14% (Konzentration: 50 mL/L;  $fK = 0,72$ ), für 150-GW bei 5% (Konzentration: 50 mL/L;  $fK = 0,9513$ ) und für 150-IP9 bei 25% (Konzentration: 50 mL/L;  $fK = 0,7055$ ). Für 205-IP9 und 151-IP21 kann kein  $EC_{50}$  ermittelt werden. 50 mL/L des Eluats 205-IP9 entsprechen  $EC_{16}$  ( $fK = 0,7143$ ), 50 mL/L des Eluats 151-IP21 entsprechen  $EC_{15}$  ( $fK = 0,7286$ ).

Bei 202-IP9 (Vorverdünnung 1 mL/L) wird die Toxizität um das 3,5-fache reduziert. Der  $EC_{50}$ -Wert der reinen Lösung beträgt 0,07 mL/L, während derjenige nach Bodenbehandlung bei 0,24 mL/L liegt.

##### 3.4.1.2 Kaskadenbehandlung

Die Ergebnisse der Kaskadenbehandlungen zeigt Tab. 3.2. Die Toxizität von 202-IP9 nimmt von der 1. zur 3. Kaskade um etwas mehr als das Doppelte zu. Der  $EC_{50}$ -Wert nimmt von 0,24 mL/L, Verdünnungsstufe 4170, in der ersten Kaskade auf 0,11 mL/L, Verdünnungsstufe 9090, in der dritten Kaskade ab.



**Abb. 3.3.** Vergleich der Toxizitäten unbehandelter und bodenbehandelter Abfalleluats im Leucht bakterientest. Es sind nur die Eluate dargestellt, bei denen nach Bodenbehandlung noch ein  $EC_{50}$  ermittelt werden kann. Die  $EC_{50}$ -Werte sind zur Verdeutlichung der Toxizität in die jeweilige Verdünnungsstufe umgerechnet ( $EC_{50}^{-1} \cdot 10^3$ ). Verdünnung der Eluate vor Bodenbehandlung: 202-IP9: 1 mL/L, 202-GW: 2 mL/L, 157-GW, 156-IP9, 156-GW, 155-IP9, 155-GW, 153-IP9, IP21 dot.: 100 mL/L, 153-IP21: 50 mL/L. Keine weitere Verdünnung vor Test. 205-IP9, 151-IP21: kein  $EC_{50}$ . Alle anderen Eluate sind in den getesteten Konzentrationen nach Bodenbehandlung nicht leucht bakterientoxisch. Bereits vor Bodenbehandlung nicht toxisch: 158-IP9, 157-IP9, 155-IP21, 151-IP9; 157-IP21 kein  $EC_{50}$ . Stimulation der Lichtemission durch 151-IP9, 151-GW, 150-IP9, 150-GW. Eluat 202-IP21 nicht bestimmt.

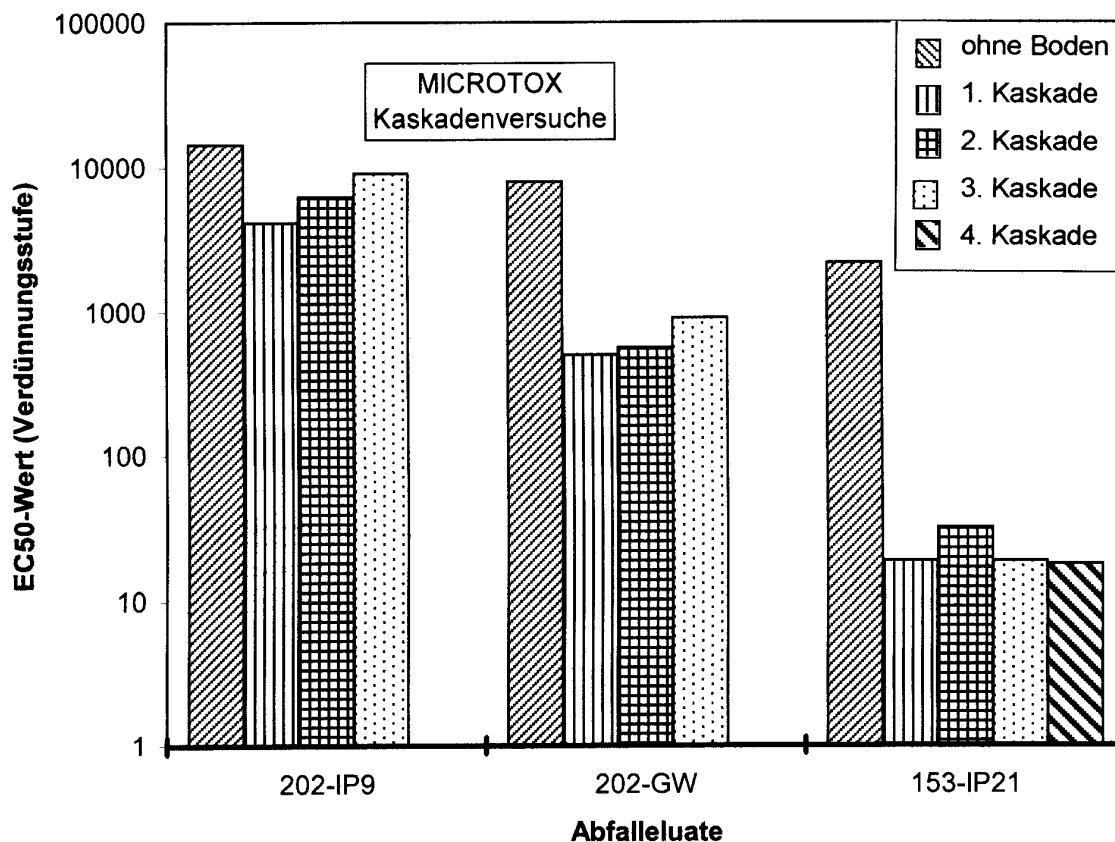
Für 202-GW zeigt sich ein ähnliches Bild. Der  $EC_{50}$ -Wert liegt bei 2,0 mL/L, Verdünnungsstufe 500, und sinkt auf 1,1 mL/L, Verdünnungsstufe 910, in der dritten Kaskade ab. Die Leuchtbakterientoxizität nimmt also ebenfalls um etwa das Doppelte zu.

**Tab. 3.2.** Leuchtbakterientests mit Kaskadenbehandlungen. Die Verdünnungsstufe des jeweiligen  $EC_{50}$ -Wertes ist mitaufgeführt und in Abb. 3.4 dargestellt.

Eluat	Verdünnung vor Kaskadenbehandlung in mL/L	Kaskadenstufe	pH-Wert nach Behandlung	$EC_{50}$ [mL/L] (95%-Vertrauensbereich in mL/L)	Verdünnungsstufe ( $EC_{50}^{-1} \cdot 10^3$ )
<b>202-IP9</b>		unbehandelt		0,07 (0,067 – 0,072)	14286
	1	1	6,3	0,24 (0,23 – 0,25)	4170
		2	6,3	0,16 (0,15 – 0,17)	6250
		3	6,3	0,11 (0,11 – 0,12)	9090
<b>202-GW</b>		unbehandelt		0,12 (0,116 – 0,118)	8333
	2	1		2,0 (0,6 – 6,9)	500
		2		1,8 (1,3 – 2,7)	560
		3		1,1 (1,0 – 1,3)	910
<b>153-IP21</b>		unbehandelt		0,46 (0,42 – 0,51)	2174
	50	1	6,1	52,9 (22,4 – 125,5)	19
		2	6,5	31,4 (17,4 – 55,7)	32
		3	6,9	52,0 (28,9 – 93,5)	19
		4	7,0	57,3 (40,8 – 80,6)	18
<b>153-GW</b>		unbehandelt		0,29 (0,26 – 0,31)	3448
	2,5	1		nicht toxisch	
		2		nicht toxisch	
	10	1	6,5	nicht toxisch	
		2	6,6	nicht toxisch, Stimulation	
		3	6,8	nicht toxisch, Stimulation	
		4	7,0	nicht toxisch, Stimulation	

153-IP21 zeigt in allen vier Kaskadenstufen ähnliche  $EC_{50}$ -Werte. Die zweite Stufe hat zwar einen niedrigeren Wert als die anderen Stufen, liegt aber mit dem Vertrauensbereich in der gleichen Größenordnung wie die anderen Kaskaden. Für alle Kaskadenstufen von 153-IP21 hat der Vertrauensbereich eine große Spannweite (mindestens 17,4 mL/L, maximal 125,5 mL/L). In Abb. 3.4 sind die durch die Kaskadenbehandlung erzielten Effekte für 202-IP9, 202-GW und 153-IP21 graphisch dargestellt.

153-GW ist sowohl in 2,5 mL/L-Verdünnung (zwei Kaskaden) als auch in 10 mL/L-Verdünnung (vier Kaskaden) nicht leucht bakterientoxisch. Bei der 10 mL/L-Verdünnung kommt es sogar ab der zweiten Stufe zu einer leichten Stimulation der Lichtemission.

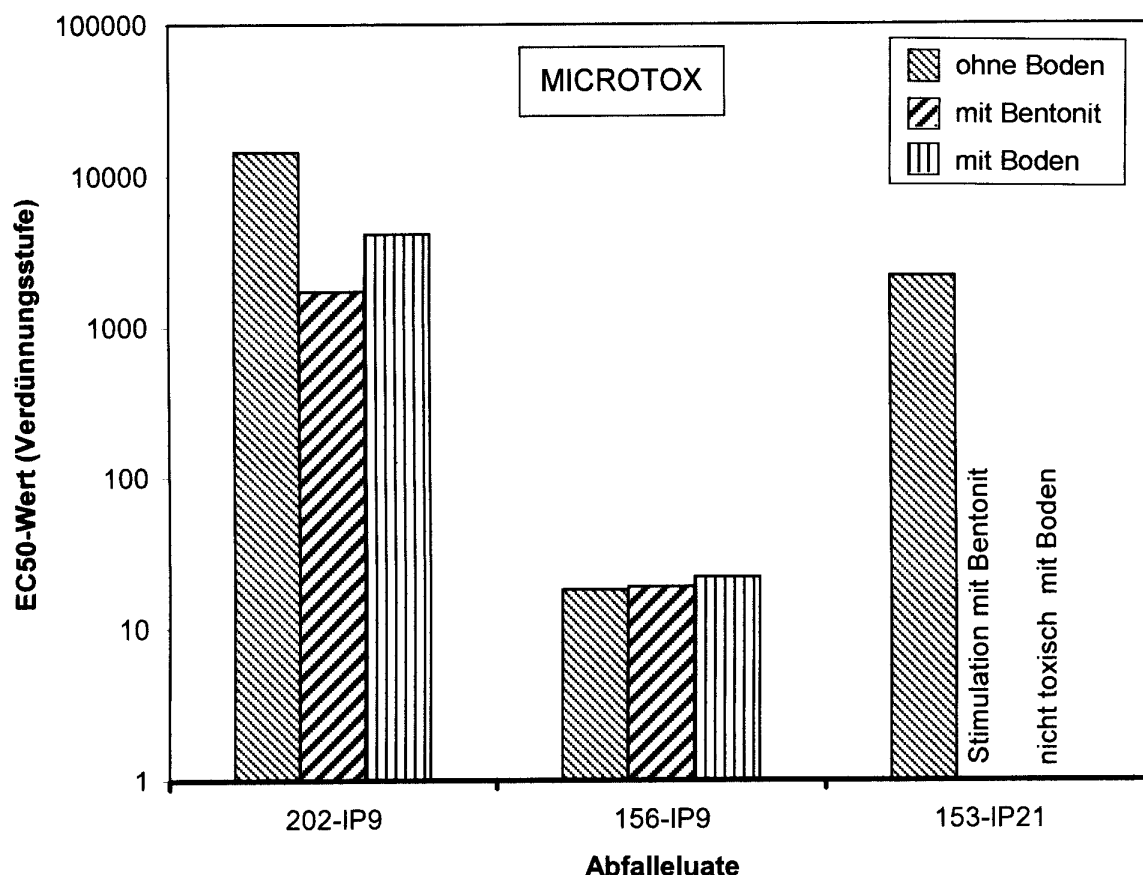


**Abb. 3.4.** Kaskadenversuche mit 202-IP9, 202-GW und 153-IP21. Ergebnisse der Leucht bakterientests. 202-IP9 und 202-GW zeigen eine deutliche Zunahme der Toxizität von der 1. zur 3. Kaskade, bei 153-IP21 findet sich dieser Effekt nicht. Verdünnung vor Kaskadenbehandlung: 202-IP9: 1 mL/L, 202-GW: 2 mL/L, 153-IP21: 50 mL/L.

#### 3.4.1.3 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Bentonit

Wird 202-IP9 auf 1 mL/L verdünnt und mit Humussäure-Natriumsalz versetzt, beträgt der  $EC_{50}$  0,055 mL/L (95%-Vertrauensbereich: 0,05 – 0,06 mL/L). Nach Versetzen der 202-IP9-Lösung mit Humussäure-Natriumsalz und Bentonit liegt der  $EC_{50}$  bei 0,051 mL/L (0,047 – 0,055 mL/L). Im Vergleich dazu liegt der  $EC_{50}$  einer mit der gleichen Menge Humussäure-Natriumsalz behandelten IP9-Lösung aber, bedingt durch die starke Dunkelfärbung, auch bei 0,059 mL/L (0,055 – 0,064 mL/L). Die tatsächliche Toxizität von Lösungen mit der in diesen Versuchen relevanten Konzentration an Huminsäure-Natriumsalz kann daher im Leucht bakterientest nicht ermittelt werden (s. auch Kap. 2.1.3).

Abb. 3.5 zeigt die Ergebnisse der Sorptionsversuche mit Bentonit für die Eluate 202-IP9, 156-IP9 und 153-IP21 (s. dazu auch Tab. A.7 im Anhang). Im Vergleich dazu sind außerdem die Ergebnisse vor und nach der Bodenbehandlung dargestellt.



**Abb. 3.5.** Vergleich der Wirkung von Boden und Bentonit auf die Leuchtakterien-Toxizität der Eluate 202-IP9, 156-IP9 und 153-IP21. Bei 202-IP9 und 153-IP21 finden sich deutliche Adsorptionseffekte, bei 156-IP9 dagegen keine. Verdünnung vor Behandlung: 202-IP9: 1 mL/L, 156-IP9: 100 mL/L, 153-IP21: 5 mL/L. Eingesetzte Menge Bentonit: 5 g/L.

202-IP9 hat nach Verdünnung auf 1 mL/L unter Zusatz von Bentonit einen  $EC_{50}$  von 0,58 mL/L (0,45 – 0,76 mL/L), Verdünnungsstufe 1724. Der  $EC_{50}$  von 156-IP9 liegt unter Zusatz von Bentonit bei 52,42 mL/L (47,78 – 57,51 mL/L), Verdünnungsstufe 19, also in der Größenordnung von reinem Eluat und Bodenbehandlung (s. o.). Die Eluate 153-IP21 (5 mL/L verdünnt) und 151-IP9 (100 mL/L verdünnt) sind nach Versetzen mit Bentonit nicht leucht bakterientoxisch, 153-IP21 verursacht sogar eine Stimulation der Biolumineszenz um 9% ( $fK = 1,017$ ).

Eine eventuelle Leucht bakterientoxizität von Bentonit konnte in einem Vorversuch (Bentonit versetzt mit dest. Wasser, Messung im Leucht bakterientest) ausgeschlossen werden.

### 3.4.2 MUTATOX™-Test

#### 3.4.2.1 Bodenbehandlung

Tab. 3.3 zeigt die Auswirkungen der Bodenbehandlung auf die Mutagenität der Eluate im Vergleich zu ihrer Mutagenität ohne Bodeneinfluß.

Im Ansatz ohne S9 verschiebt sich bei 205-IP9 der mutagene Konzentrationsbereich von 25 – 50 mL/L vor der Bodenbehandlung auf 50 – 100 mL/L nach der Bodenbehandlung. Mit S9 ist dieses Eluat nicht mutagen. 202-IP9 ist nach Bodenbehandlung in einem Konzentrationsbereich von 0,063 – 0,25 mL/L mutagen. Mit S9 liegt nach Bodenbehandlung keine Mutagenität vor. 155-IP9 ist sowohl ohne als auch mit S9 von 12,5 – 50 mL/L mutagen, beim reinen Eluat beginnt die mutagene Konzentration schon bei 3,1. Das Eluat 153-IP21 ist sowohl mit als auch ohne S9 nach Bodenbehandlung nicht mutagen (Tab. 3.3).

Die optische Dichte ist nach Bodenbehandlung des Eluats 205-IP9 unter S9-Zusatz ab 50 mL/L reduziert. Dieses Ergebnis entspricht demjenigen ohne Bodeneinfluß (s. Kap. 3.2). Ohne S9 ist die optische Dichte weder vor noch nach Bodenbehandlung reduziert. Bei 202-IP9 ist sie mit S9 ab 2 mL/L reduziert (vorher ab 0,5 mL/L) und ohne S9 ab 1 mL/L. Mit 155-IP9 und 153-IP21 bleibt sie, wie auch ohne Bodenbehandlung, unbeeinflußt.

**Tab. 3.3.** Mutagene Konzentrationsbereiche der Eluate vor und nach Bodenbehandlung

Eluat		mutagener Konzentrationsbereich vor Bodenbehandlung [mL/L]	mutagener Konzentrationsbereich nach Bodenbehandlung [mL/L]
<b>205-IP9</b>	ohne S9	25 – 50	50 – 100
	mit S9	1,6 – 6,3 (gering)	nicht mutagen
<b>202-IP9</b>	ohne S9	0,063 – 0,125	0,063 – 0,25
	mit S9	0,25 (gering)	nicht mutagen
<b>155-IP9</b>	ohne S9	3,1 – 50	12,5 – 50
	mit S9	3,1 - 50	12,5 – 50
<b>153-IP21</b>	ohne S9	12,5 – 25	nicht mutagen
	mit S9	nicht mutagen	nicht mutagen

#### 3.4.2.2 Kaskadenbehandlung

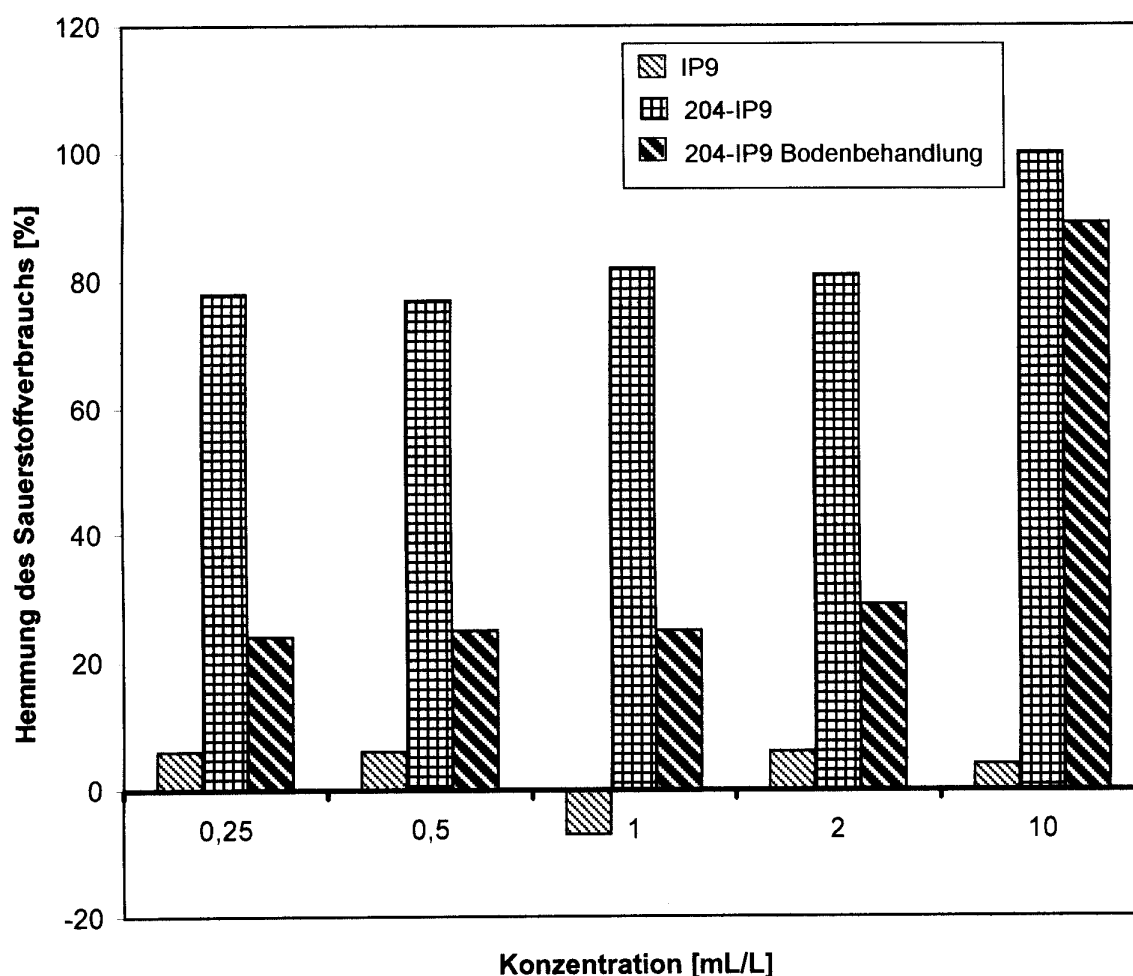
Die 1. und 4. Kaskade von 153-IP21 (Vorverdünnung 50 mL/L) werden in einem Konzentrationsbereich von 0,2 bis 25 mL/L getestet. Beide Stufen sind sowohl ohne als auch mit S9 nicht mutagen. Auch die optische Dichte ist nicht verringert.

Im Gegensatz dazu steht das ohne S9 mutagene, unbehandelte Eluat. Diese Mutagenität wird durch Bodenbehandlung (s. dazu auch Kap. 3.4.2.1) auch noch nach der 4. Kaskadenstufe eliminiert.

### 3.4.3 Hemmtest nach OFFHAUS

#### 3.4.3.1 Bodenbehandlung

Die Toxizität von 204-IP9, 202-IP9, 153-IP21, 153-IP9, 153-GW, IP21 dot. und Q-Lauge Bei-enrode wird durch die Elution mit Boden stark verringert. Dieses wird besonders an 204-IP9 deutlich (Abb. 3.6).



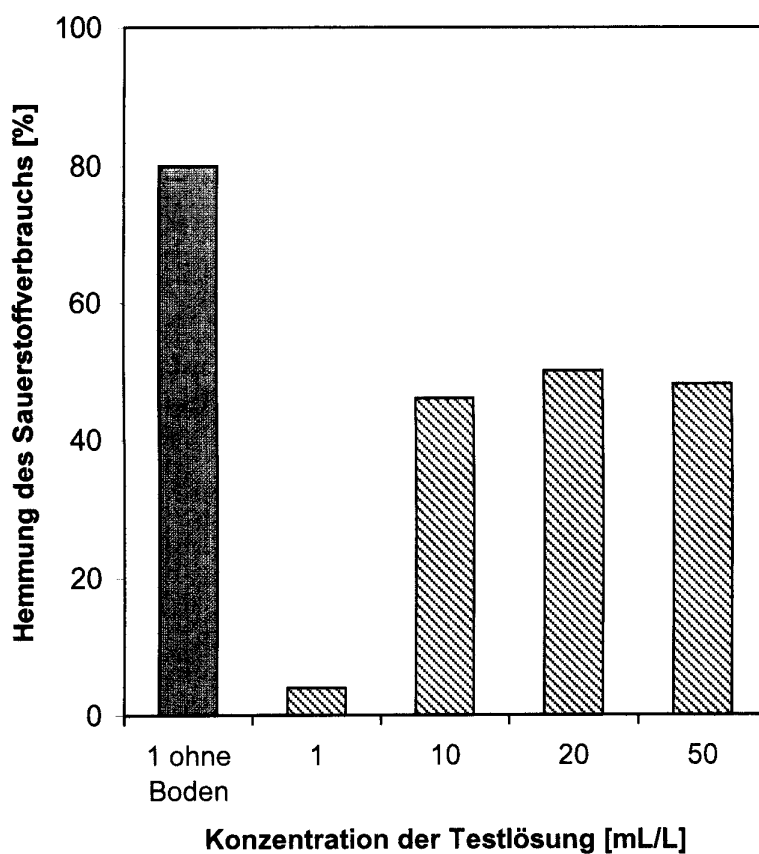
**Abb. 3.6.** Ergebnisse des Hemmtests nach OFFHAUS mit IP9, 204-IP9 und 204-IP9 nach Bodenbehandlung. Die Kontrolle (Leitungswasser für IP9 und 204-IP9; bodenbehandeltes Leitungswasser = Kontrollbodenbehandlung für 204-IP9 nach Bodenbehandlung; beide mit Impfwasser und Pepton) ist auf 0% Hemmung gesetzt. Die Abweichungen der Testlösungen werden prozentual dazu angegeben. Der negative Wert bei auf 1 mL/L verdünnter IP9-Lauge weist auf eine leichte Stimulation des Sauerstoffverbrauchs der Abwasser-Mikroorganismen hin.



Im Vergleich zu der mitgeführten Kontroll-Bodenbehandlung, die den Sauerstoffverbrauch gegenüber der üblichen Leitungswasser-Kontrolle um ca. 69% erhöht, hemmt die 0,25 mL/L-Verdünnung von 204-IP9 den Sauerstoffverbrauch um 24%. Die in dieser Verdünnung festgestellte Hemmung ohne Bodeneinfluß liegt indes bei 79%. 10 mL/L 204-IP9 rufen dagegen trotz Bodenbehandlung eine 89%-ige Hemmung gegenüber der Kontroll-Bodenbehandlung hervor.

Der nach der Bodenbehandlung zurückgebliebene Boden wird ebenfalls, jedoch ohne Zusätze, im Sapromat vermessen. Hier kommt es bei der höchsten eingesetzten Konzentration von 204-IP9 zu einer Stimulation des Sauerstoffverbrauchs in Höhe von 77% gegenüber dem Kontrollboden.

202-IP9 auf 1 mL/L verdünnt und mit Boden behandelt (Abb. 3.7) ruft gegenüber der Kontroll-Bodenbehandlung nur eine 4%-ige Hemmung hervor. Ab 10 mL/L kommt es zu einer deutlichen Hemmung in Höhe von 46%, die auch bei den Verdünnungen 20 mL/L und 50 mL/L im gleichen Bereich bleibt (49,6% und 47,5%).



**Abb. 3.7.** Ergebnisse des Hemmtests nach OFFHAUS mit 202-IP9 nach Bodenbehandlung. Die Kontrollbodenbehandlung (bodenbehandeltes Leitungswasser mit Impfwasser und Pepton) ist auf 0% Hemmung gesetzt. Die Abweichungen der Testlösungen werden prozentual dazu angegeben. Zum Vergleich ist die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs der Abwasser-Mikroorganismen durch das auf 1 mL/L verdünnte 202-IP9-Eluat ohne Bodeneinfluß dargestellt (Boden mit Leitungswasser; graue Säule).

Das Eluat IP21-dot. ist in der 10 mL/L-Verdünnung gegenüber der Kontrollbodenbehandlung um 26% gehemmt, gegenüber der undotierten Bodenbehandlung mit IP21 in gleicher Verdünnung um 42%. Dagegen führt das nicht mit Boden behandelte Eluat bei gleicher Verdünnung zu einer Hemmung von 80%.

Die Q-Lauge Beienrode hemmt den Sauerstoffverbrauch der Abwasser-Mikroorganismen nach Bodenbehandlung nicht mehr, im Gegensatz zu 100%-iger Hemmung (50 mL/L) ohne Bodeneinfluß. Auch die Eluate von CA 153 hemmen nach erfolgter Bodenbehandlung den Sauerstoffverbrauch der Abwasser-Mikroorganismen im getesteten Konzentrationsbereich nicht mehr.

Das schadstofffreie Verdünnungswasser (Boden mit dest. Wasser eluiert, s. Kap. 2.2.4) verursacht einen gegenüber einer üblichen Kontrolle (Leitungswasser mit Pepton und Impfwasser) um 46% erhöhten Sauerstoffverbrauch. Wird 202-IP9 mit diesem Verdünnungswasser auf 5 mL/L verdünnt, wird der Sauerstoffverbrauch trotz der im Verdünnungswasser enthaltenen Bodenbestandteile noch immer um 86% gegenüber der üblichen Kontrolle gehemmt. Gegenüber dem schadstofffreien Verdünnungswasser liegt die Hemmung sogar bei 90%.

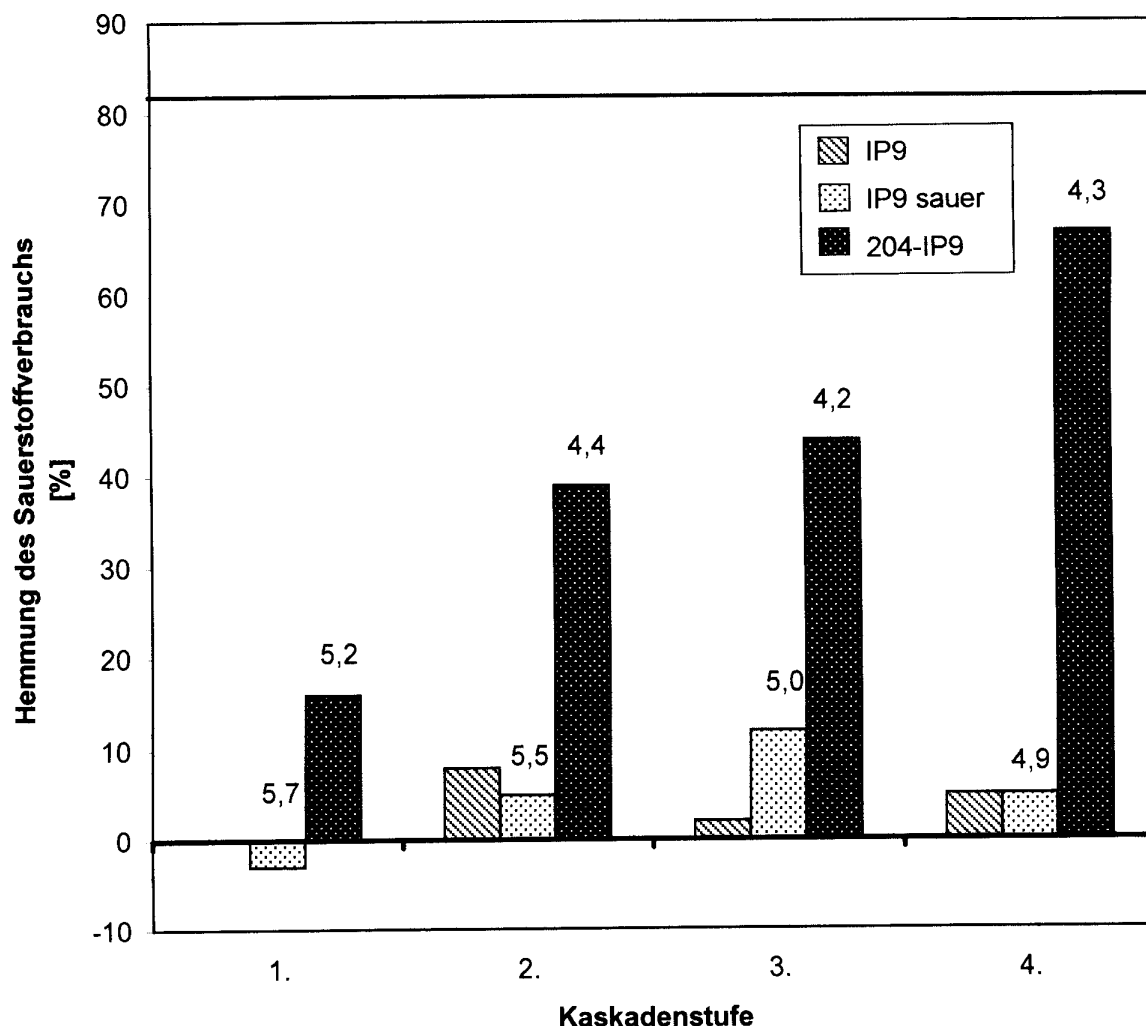
### 3.4.3.2 Kaskadenbehandlung

Die Boden-Kaskadenbehandlung mit 204-IP9 (vor Behandlung auf 2 mL/L verdünnt) ergibt eine deutliche Zunahme der Toxizität von Kaskadenstufe zu Kaskadenstufe (Abb. 3.8, S. 52). Der pH-Wert nimmt von der ersten zur vierten Stufe von pH 5,2 über pH 4,4 auf pH 4,2 und pH 4,3 ab (s. auch Tab. 2.7 in Kap. 2.2.4). Um den pH-Effekt der Testlösung einschätzen zu können, wird ein pH-Kontrollansatz mitgeführt. Hierbei handelt es sich um mit Schwefelsäure auf pH 4 angesäuertes Leitungswasser, das anschließend der Kaskadenbehandlung unterzogen wird. Der pH-Wert ist hier nach Bodenbehandlung etwas höher als in den Kaskadenbehandlungen mit 204-IP9, er nimmt von pH 5,7 über pH 5,5 und pH 5,0 auf pH 4,9 ab. Diese in Abb. 3.8 als ‚IP9 sauer‘ bezeichneten Kaskadenbehandlungen rufen keine deutliche Hemmung des Sauerstoffverbrauchs hervor.

153-IP21 (Abb.3.9, S. 53) ist nach Verdünnung auf 50 mL/L und anschließender Bodenbehandlung nicht mehr toxisch. Bei der Kaskadenbehandlung kommt es nur zu einer leichten Zunahme der Toxizität in der zweiten, dritten und vierten Kaskade, wobei die Werte für die 3. und 4. Kaskade dicht beieinander liegen. Der gleiche Effekt ist bei den Boden-Kaskadeneeluaten mit schadstofffreier IP21-Lösung festzustellen. Im Gegensatz dazu steht das von Boden unbeeinflusste 153-IP21-Eluat, das in dieser Konzentration (50 mL/L) eine 100%ige Hemmung des Sauerstoffverbrauchs verursacht.

Mit 153-GW, vorverdünnt auf 10 mL/L vor Bodenbehandlung, findet sich nur in der vierten Elutionsstufe ein geringerer Sauerstoffverbrauch gegenüber den Stufen 1 – 3, insgesamt

wird der Sauerstoffverbrauch im Vergleich zu 153-IP21 und IP21 in allen vier Kaskadenstufen deutlich stimuliert (Abb. 3.9, S. 53).

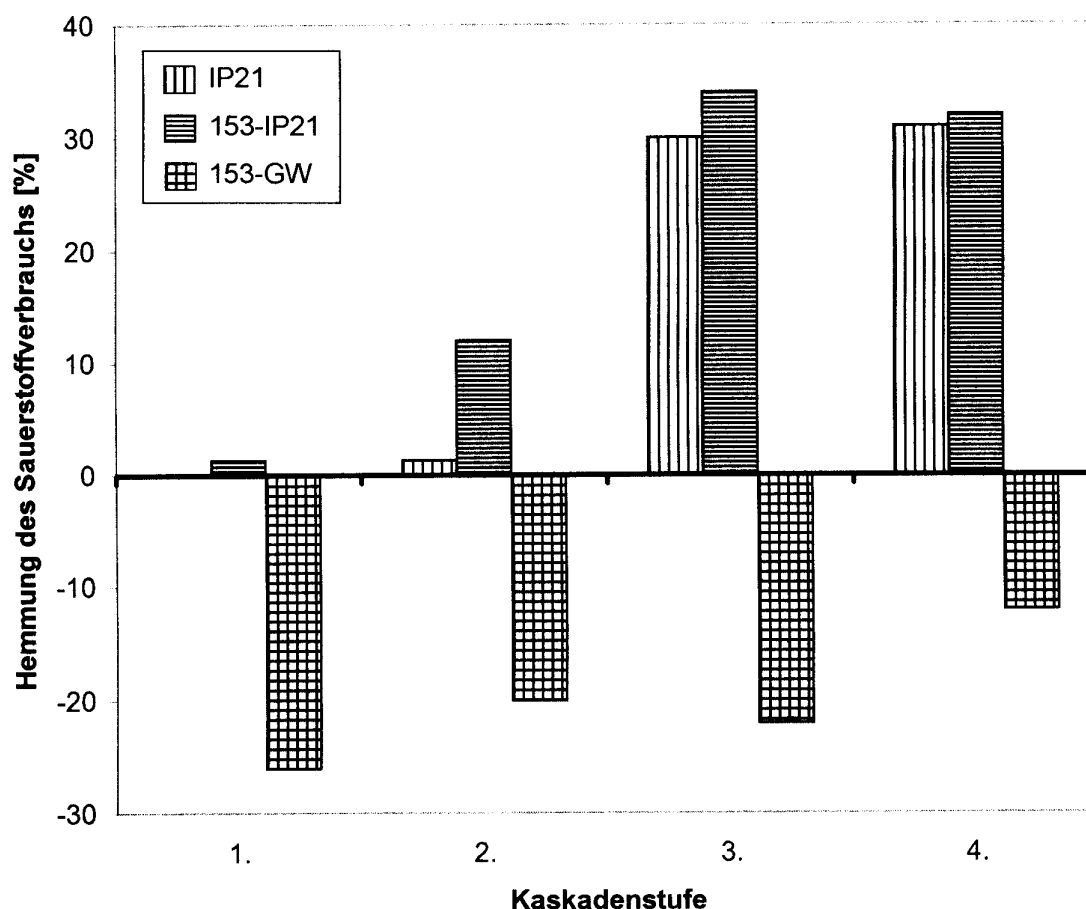


**Abb. 3.8.** Kaskadenversuch mit 204-IP9. Ergebnisse des Hemmtests nach OFFHAUS. Verdünnung aller Testlösungen vor Kaskadenbehandlung: 2 mL/L. IP9 sauer (angesäuert mit Schwefelsäure auf pH 4,0 vor Kaskadenbehandlung) bezeichnet den pH-Kontrollansatz zur Einschätzung des pH-Effektes von 204-IP9. Der Sauerstoffverbrauch der 1. Kaskade mit IP9 wird definitionsgemäß auf 0% Hemmung gesetzt. Die Abweichungen der Testlösungen werden prozentual dazu angegeben. Die durchgezogene Linie demonstriert die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs der Abwasser-Mikroorganismen bei auf 2 mL/L verdünntem 204-IP9-Eluat ohne Bodeneinfluß (82%). Die pH-Werte der Kaskadenbehandlungen sind jeweils über den Säulen angegeben.

#### 3.4.3.3 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natrium Salz und Tonmineralen

Bei Versetzen von auf 50 mL/L verdünntem 153-IP21-Eluat mit 5, 50, 500 und 5000 mg Bentonit/L ergibt sich gegenüber reinem, gleichermaßen verdünntem 153-IP21-Eluat im Gegensatz zum bodenbehandelten Eluat kein positiver Effekt. Die Hemmung des Sauerstoff

verbrauchs bleibt bei nahezu 100%. (Im Vergleich dazu wurde das Eluat im Leuchtbakterientest auf 5 mL/L vor Versetzen mit Bentonit verdünnt.)

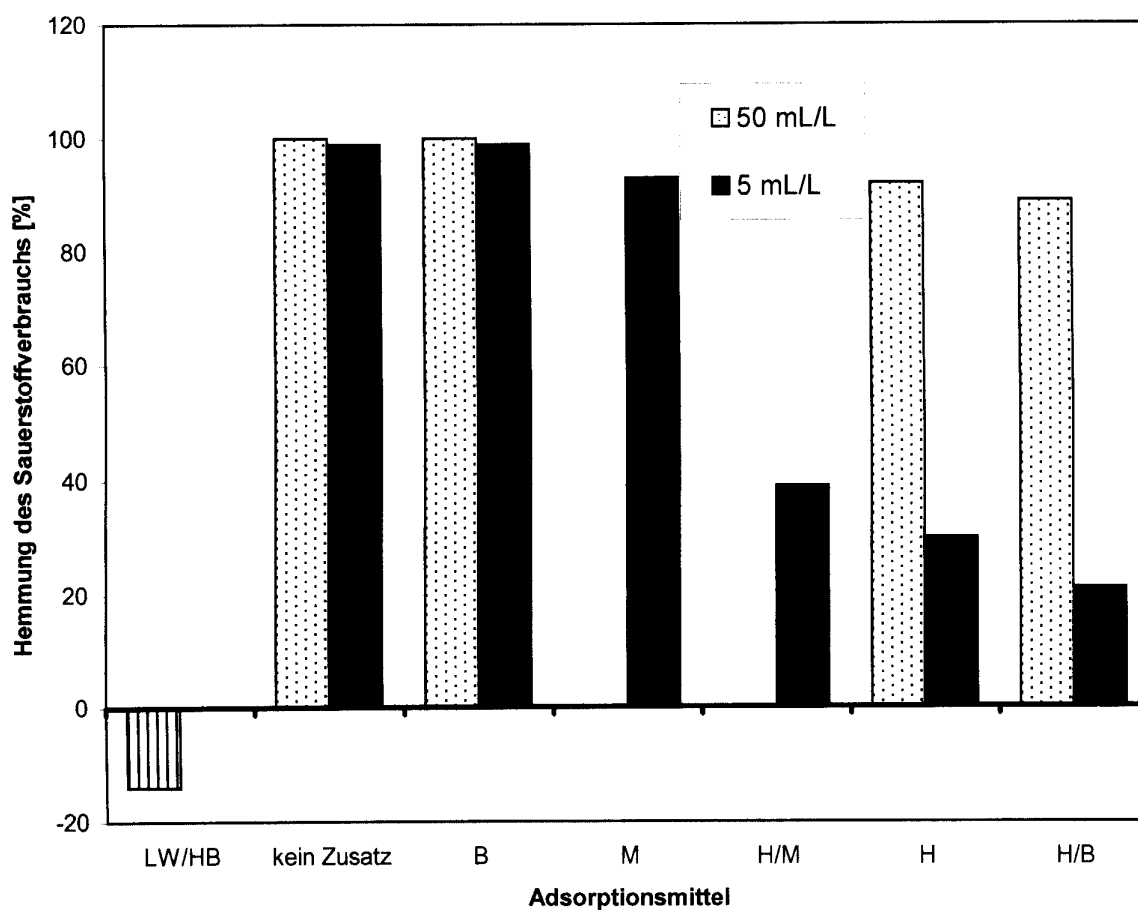


**Abb. 3.9.** Kaskadenversuche mit IP21, 153-IP21 und 153-GW. Ergebnisse des Hemmtests nach OFFHAUS. Der Sauerstoffverbrauch der 1. Kaskade mit IP21 wird definitionsgemäß auf 0% Hemmung gesetzt. Die Abweichungen der anderen Kaskadenbehandlungen werden prozentual dazu angegeben. 153-GW ruft gegenüber der 1. Kaskade von IP21 eine Stimulation des Sauerstoffverbrauchs hervor (dargestellt als negative Hemmung). Eingesetzte Verdünnungen: IP21 und 153-IP21: 50 mL/L. 153-GW: 10 mL/L. Hemmung durch die Schadstofflösungen ohne Bodeneinfluß: 153-IP21 (50 mL/L): 100%, 153-GW (10 mL/L): 100%.

In einem Sorptionsversuch mit 202-IP9, Humussäure-Natriumsalz und verschiedenen Tonmineralen (Abb. 3.10) ergeben sich folgende Effekte: Leitungswasser, versetzt mit Humussäure-Natriumsalz und Bentonit, weist gegenüber der üblichen Kontrolle (Leitungswasser ohne Zusätze außer Pepton und Impfwasser) eine Stimulation des Sauerstoffverbrauchs von 14% auf. (Die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs durch die Schadstofflösungen ist gegenüber dem Leitungswasser mit Humussäure und Bentonit grundsätzlich höher als die Hemmung gegenüber der üblichen Kontrolle, weil es durch die Huminsäure zu einer Stimulation des Sauerstoffverbrauchs durch die Abwasser-Mikroorganismen kommt. In den fol

genden Ausführungen wird jedoch der Übersichtlichkeit halber, und um eine Gesamt-Vergleichbarkeit zu erhalten, nur die Hemmung gegenüber der üblichen Kontrolle aufgeführt.)

50 mL 202-IP9/L hemmen den Sauerstoffverbrauch ohne Adsorbentien vollständig. Wird das Eluat in dieser Konzentration mit Bentonit versetzt, bleibt die Hemmung vollständig. Bei Zusatz von Humussäure-Natriumsalz wird die Hemmung zwar leicht reduziert, liegt aber immer noch bei 92% gegenüber der Kontrolle. Die Kombination aus Humussäure-Natriumsalz und Bentonit reduziert die Hemmung geringfügig auf 89%.



**Abb. 3.10.** Sorptionsversuche mit 202-IP9. Ergebnisse des Hemmtests nach OFFHAUS. Die Kontrolle (Leitungswasser mit Impfwasser und Pepton) ist auf 0% Hemmung gesetzt. Abkürzungen: **LW/HB**: Leitungswasser mit 3,5 g Humussäure/L und 5 g Bentonit/L; **B**: 5 g Bentonit/L; **M**: 5 g Montmorillonit/L; pH-Wert-Erhöhung auf pH 5,0. **H/M**: 3,5 g Humussäure und 5 g Montmorillonit/L; **H**: 3,5 g Humussäure/L, **H/B**: 3,5 g Humussäure und 5 g Bentonit/L. Nicht dargestellt sind 50 mL/L und 10 mL/L verdünntes 202-IP9-Eluat versetzt mit 3,5 g Humussäure und 5 g Bentonit/L. (Hemmung 89 bzw 88%) und 5 mL/L verdünntes Eluat versetzt mit 5 g Montmorillonit ohne pH-Wert-Erhöhung (pH 3,1, Hemmung 97%). Der Negativ-Wert bei LW/HB zeigt eine Stimulation des Sauerstoffverbrauchs der Abwasser-Mikroorganismen an.

Nach Verdünnung des 202-IP9-Eluats auf 10 mL/L und Zusatz von Humussäure sowie Bentonit liegt die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs mit 88% immer noch sehr hoch. Erst nach Verdünnung des 202-IP9-Eluats auf 5 mL/L gibt es wesentlich stärkere Effekte. Das 202-IP9-

Eluat ohne Adsorbentien und die mit Bentonit versetzte Probe rufen immer noch eine nahezu vollständige Hemmung in Höhe von 99% hervor. Bei Zusatz von Humussäure wird die Hemmung auf 30% reduziert. Humussäure kombiniert mit Bentonit verringert sie sogar auf 21% (pH-Wert: 8,1).

Wird Montmorillonit zu 5 mL 202-IP9/L gegeben, reduziert es die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs nicht. Eine Mischung von Humussäure und Montmorillonit verringert die Hemmung nur auf 45%. Der pH-Wert wird durch Montmorillonit drastisch reduziert. Der Ansatz mit Montmorillonit hat einen pH-Wert von 3,1, der Montmorillonit/Humussäure-Ansatz weist einen pH-Wert von 5,4 auf, gegenüber pH 8,1 im reinen Humussäure-Ansatz. Wird der pH-Wert des Montmorillonit-Ansatzes auf 5,0 erhöht, bleibt die Hemmung dennoch bei 93%.

### 3.5 Regenwurmtests mit *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris* und *Lumbricus rubellus*

Die Ergebnisse der Regenwurmtests sind in Tab. 3.4 und Tab. 3.5 dargestellt, zwei weitere Tabellen finden sich im Anhang (Tab. A.8 und A.9). In allen Fällen ist eine Konzentration von 50 mL/L schadstofffreier Salzlauge (IP9 oder IP21) letal für die eingesetzten Regenwürmer. In der Veränderung der Biomasse können zwischen schadstofffreier Salzlauge und Schadstofflösung keine deutlichen Unterschiede festgestellt werden.

**Tab. 3.4.** Regenwurmtest mit *Eisenia fetida*. Eingesetzte Testlösungen: IP9 und 151-IP9

Konzentration der Testlösung in mL/L	Veränderung der Biomasse in %		Kokonzahl im Durchschnitt	
	IP9	151-IP9	IP9	151-IP9
Kontrolle	-18		15	
0,25	-15	-22	19	22
0,5	-24	-32	26	23
1	-16	-16	22	20
10	-7	-9	19	14
20	-4	-8	10	4
50	letal	letal	0	0

Vergleicht man die Gewichtsabnahmen unter dem Einfluß verdünnter Salzlauge mit denen unter dotierter Salzlauge bzw. unter verdünntem Eluat, liegen diese Werte dicht beieinander oder sind identisch. Zum Beispiel liegt die Gewichtsabnahme in der Untersuchung von IP21-dot. mit juvenilen Individuen von *L. terrestris* und *L. rubellus* sowohl im undotierten als auch im dotierten 10 mL/L-Ansatz bei 23%. Die Kokonzahl nimmt im Versuch mit *E. fetida* und

151-IP9 sowohl mit steigender Schadstoffkonzentration als auch mit steigender Konzentration der reinen IP-Lauge ab. Diese Abnahme ist zwar im 151-IP9-Ansatz stärker, liegt aber erst in einer Konzentration von 20 mL/L deutlich unterhalb der Kontrolle.

**Tab. 3.5.** Regenwurmtest mit *Lumbricus rubellus* und *Lumbricus terrestris* (juvenil). Eingesetzte Testlösungen: IP21 und IP21-dot.

Konzentration der Testlösung in mL/L	Veränderung der Biomasse in%	
	IP21	IP21-dot.
Kontrolle	-14	
0,5	-8	-15
1	-12	-15
2	-18	-15
10	-23	-23
20	-18	-22
50	letal	letal

### 3.6 Collembolentests mit *Folsomia candida* und *Sinella coeca*

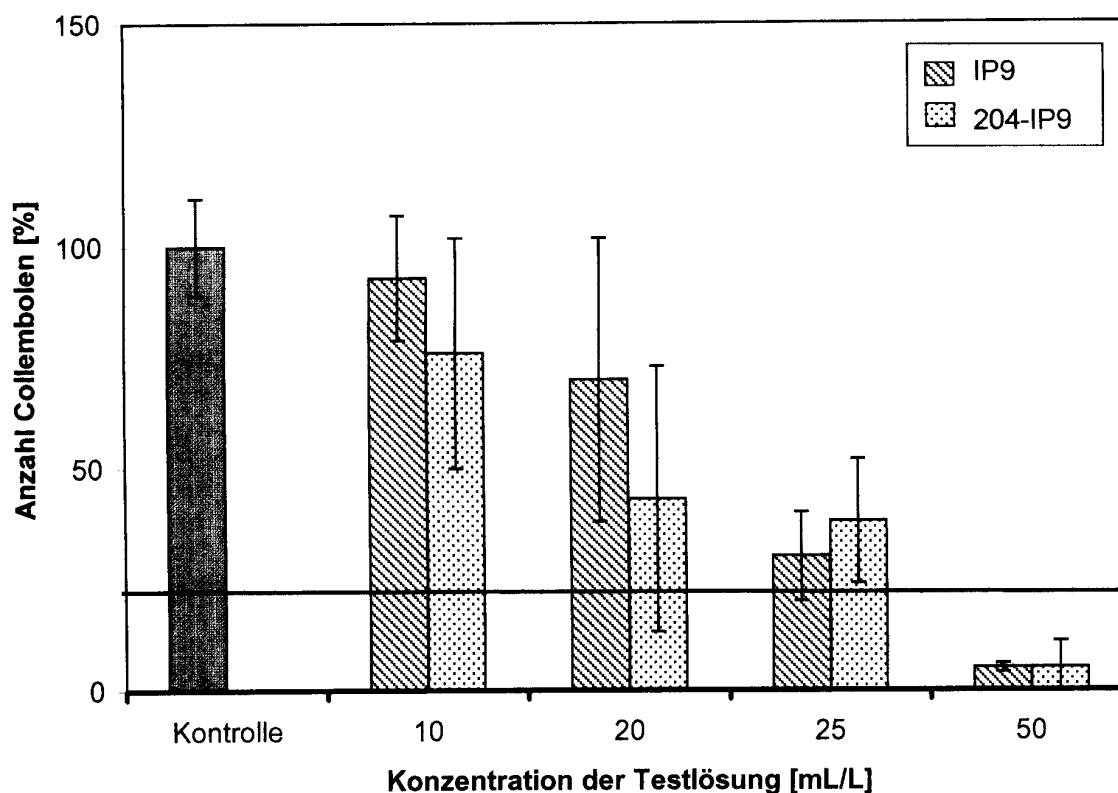
#### 3.6.1 Tests mit *Folsomia candida*

In allen Tests mit Salzlauge bzw. Salzlaugeneluaten kommt es im 50 mL/L-Ansatz zu keiner Reproduktion der Collembolen. Vereinzelt können hier nur einige überlebende adulte Individuen gezählt werden.

204-IP9 verursacht mit zunehmender Konzentration eine Reduzierung der Reproduktionsrate (Abb. 3.11, S. 57, Tab. A.10 im Anhang). Der gleiche Trend findet sich auch in dem mitgeführten IP9-Ansatz, der in diesem Versuch ausnahmsweise nur bis zur 45%-igen WHK des LUFA 2.2-Bodens angefeuchtet wurde. Nach ISO-Richtlinie (ISO 1994) sind 40 – 60% WHK vorgeschrieben. Im Gegensatz dazu war der Boden im Test mit 151-IP9 (s. u.) auf 50% der WHK, wie in allen anderen Ansätzen (mit Ausnahme eines 55%-igen Ansatzes) eingestellt.

202-IP9 und 202-GW verursachen ab 20 mL/L eine sichtbare Abnahme der Reproduktionsrate (Abb. 3.12, S. 58, Tab. A.11 und A.12 im Anhang). 202-GW stimuliert die Reproduktionsrate im Vergleich zur Kontrolle und zum 202-IP9-Ansatz bei 1mL/L deutlich. Bei 2 mL/L ist sie für beide Ansätze nahezu identisch und bereits gegenüber der Kontrolle reduziert, mit steigender Konzentration nimmt aber die Diskrepanz zwischen 202-GW und 202-IP9 stark zu, indem unter Einwirkung von 202-IP9 die Individuenzahlen schon ab 20

mL/L gegen Null gehen, bei 202-GW aber selbst im 50 mL/L-Ansatz noch juvenile Individuen gefunden werden.



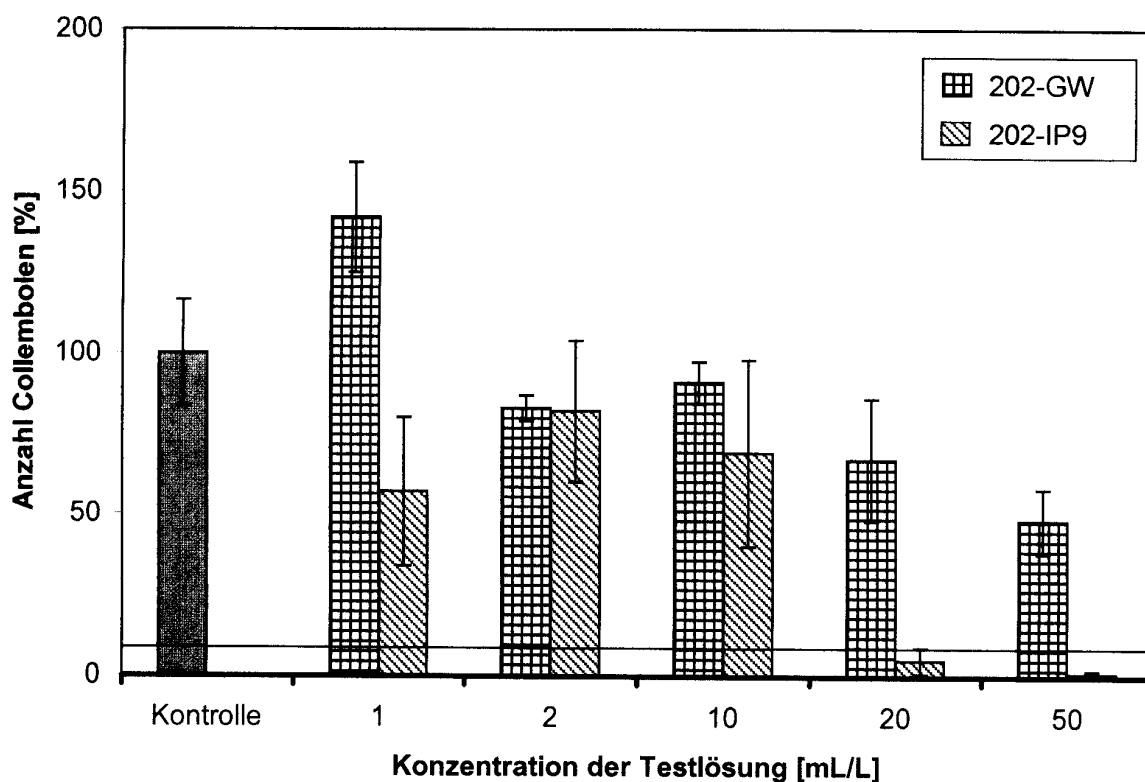
**Abb. 3.11.** Ergebnisse der Collembolentests mit *Folsomia candida*. Testlösungen: IP9 und 204-IP9. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. 45% WHK des LUFA 2.2 Bodens im IP9-Ansatz. Die durchgezogene Linie markiert die Zahl eingesetzter adulter Collembolen zu Testbeginn. Aufgrund der prozentualen Darstellungsweise liegt diese Linie bei 14%, da hier 10 Collembolen 14% der Kontrolle entsprechen. Endet eine Säule unterhalb dieser Linie, fand keine Reproduktion der Collembolen statt.

Die Reproduktionsrate ist mit IP21 und 153-IP21 nahezu identisch, während sie bei 153-IP9 in den Konzentrationen 2 und 10 mL/L etwas höher liegt im Vergleich zu den erstgenannten Testlösungen. Das Eluat 153-GW dagegen zeigt besonders in einer Konzentration von 10 mL/L eine Stimulation der Reproduktion, die hier gegenüber den drei anderen Testansätzen um ca. 75% erhöht ist. Im Gegensatz zu den Salzlaugeneluaten findet auch bei 50 mL/L noch eine – wenn auch um 45% gegenüber der Kontrolle verminderte – Reproduktion statt (Abb. 3.13, S. 59, Tab. A.13 im Anhang).

Im Test mit 151-IP9 liegen alle IP9- und 151-IP9-Ansätze mit Ausnahme des 50 mL/L-Ansatzes deutlich über der Reproduktionsrate in der Kontrolle. Im IP9-Ansatz steigt die Reproduktionsrate von 2 bis 20 mL/L kontinuierlich an (vergl. dazu den IP9-Ansatz im Versuch mit 204-IP9 bei verändertem Wassergehalt, Abb. 3.11). Im 151-IP9-Ansatz liegt die Reproduktionsrate bei 2 mL/L deutlich über derjenigen des IP9-Ansatzes, bei 10 mL/L nur noch leicht,



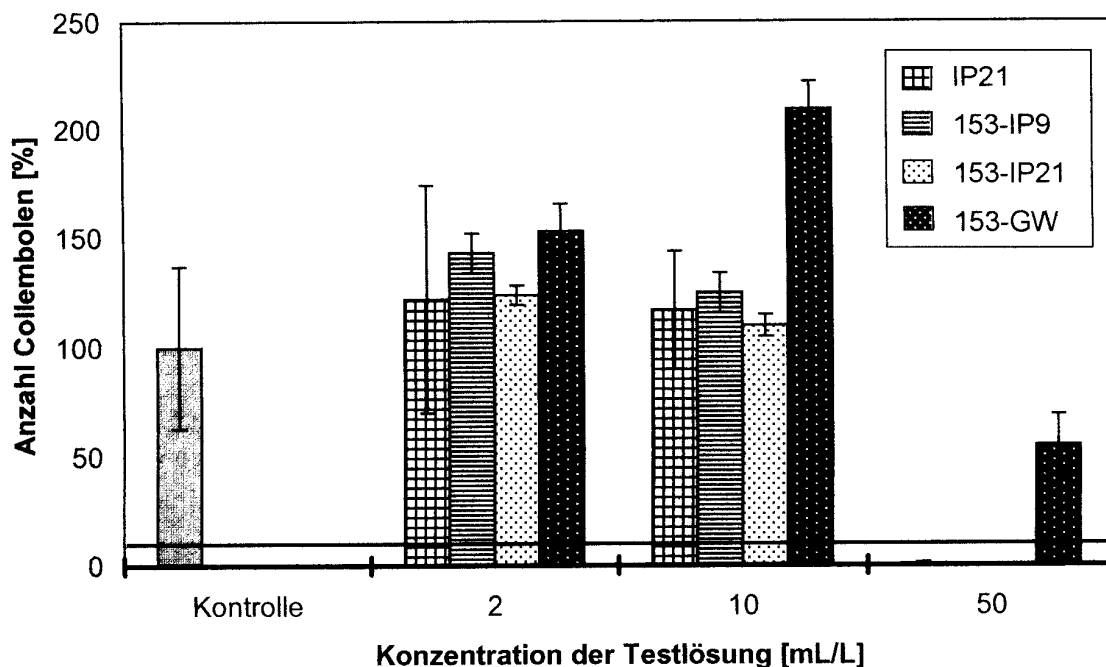
mit einer hohen Standardabweichung, und bei 20 mL/L leicht unterhalb des IP9-Ansatzes (Abb. 3.14, S. 59, Tab. A.14 im Anhang).



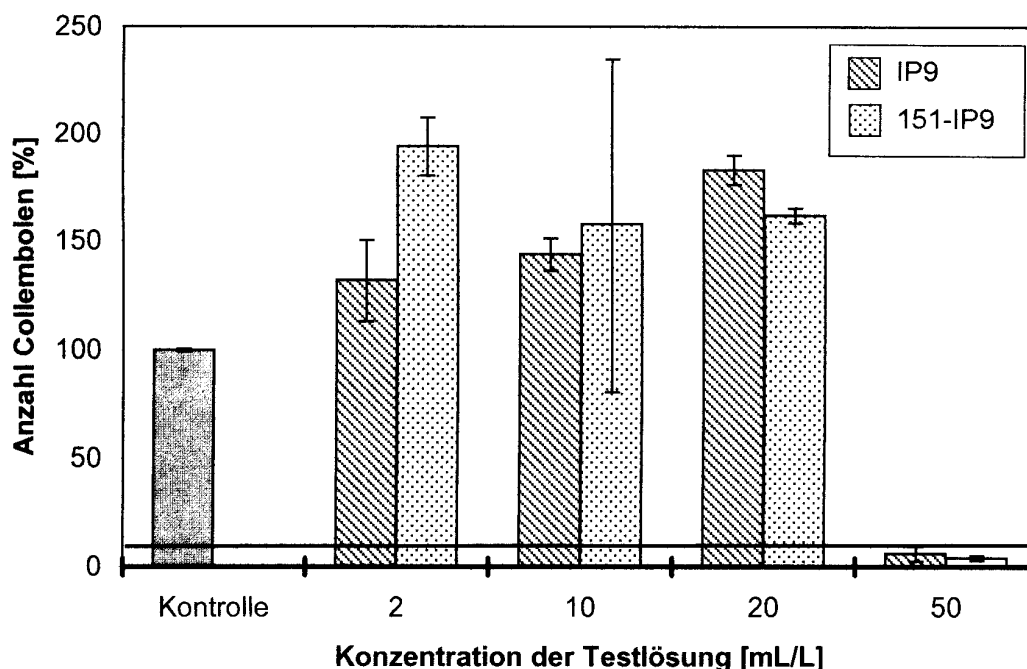
**Abb. 3.12.** Ergebnisse der Collembolentests mit *Folsomia candida*. Testlösungen: 202-GW und 202-IP9. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. Die durchgezogene Linie markiert die Zahl eingesetzter adulter Collembolen zu Testbeginn. Aufgrund der prozentualen Darstellungsweise liegt diese Linie bei 7%, da hier 10 Collembolen 7% der Kontrolle entsprechen. Endet eine Säule unterhalb dieser Linie, fand keine Reproduktion der Collembolen statt.

Im Ansatz mit IP21-dot. gibt es keine eindeutigen Tendenzen. Die Schwankungen sind derart stark, daß eine weitere Auswertung nicht sinnvoll erscheint.

Insgesamt ist beim Collembolentest die starke Zunahme der Reproduktionsrate unter erhöhtem Wassergehalt auffällig. So liegt diese in einer Kontrolle mit 45% der WHK des LUFA 2.2 Bodens bei 125 Individuen (Mittelwert aus 4 Parallelansätzen; Standardabweichung:  $\pm 0,71$ ), mit 55% der WHK dagegen bei 295 Individuen (Standardabweichung:  $\pm 5,03$ ).



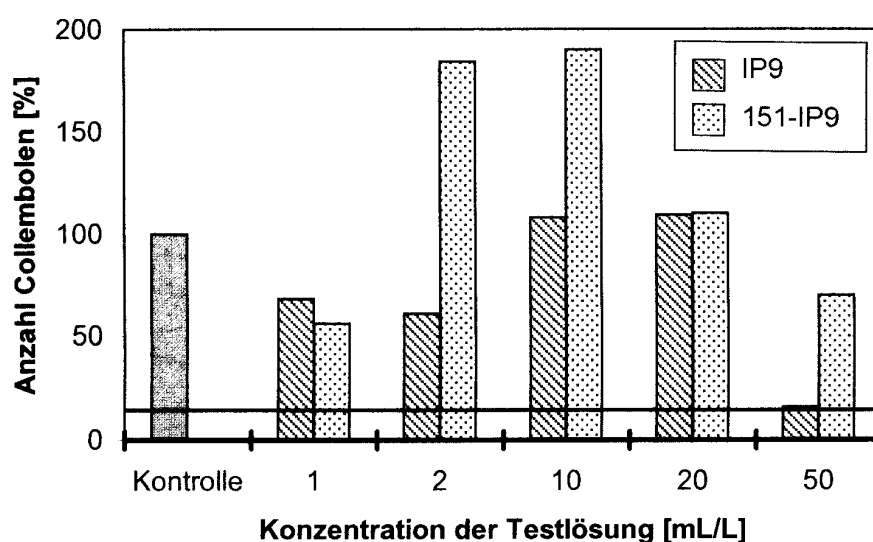
**Abb. 3.13.** Ergebnisse der Collembolentests mit *Folsomia candida*. Testlösungen: IP21, 153-IP9, 153-IP21, 153-GW. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. Die durchgezogene Linie markiert die Zahl eingesetzter adulter Collembolen zu Testbeginn. Aufgrund der prozentualen Darstellungsweise liegt diese Linie bei 5%, da hier 10 Collembolen 5% der Kontrolle entsprechen. Endet eine Säule unterhalb dieser Linie, fand keine Reproduktion der Collembolen statt.



**Abb. 3.14.** Ergebnisse der Collembolentests mit *Folsomia candida*. Testlösungen: IP9 und 151-IP9. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. Die durchgezogene Linie markiert die Zahl eingesetzter adulter Collembolen zu Testbeginn. Aufgrund der prozentualen Darstellungsweise liegt diese Linie bei 8%, da hier 10 Collembolen 8% der Kontrolle entsprechen. Endet eine Säule unterhalb dieser Linie, fand keine Reproduktion der Collembolen statt.

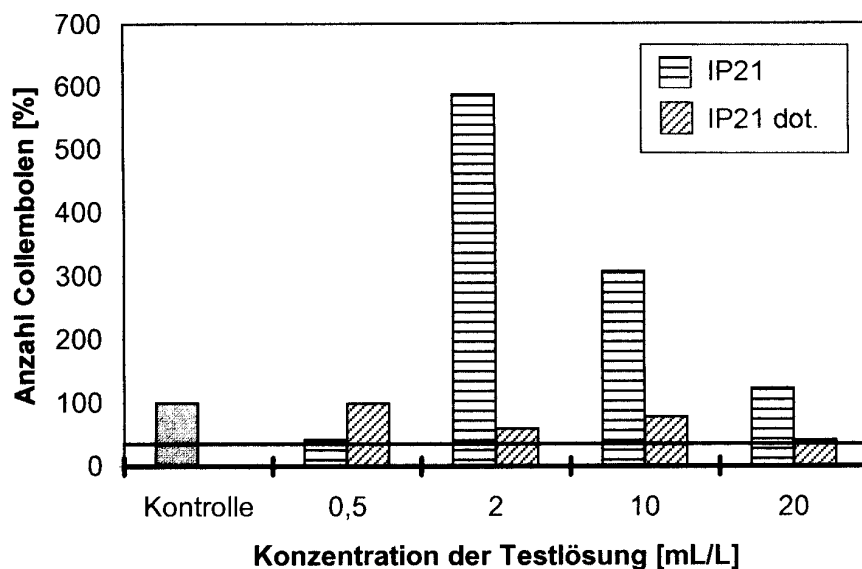
### 3.6.2 Tests mit *Sinella coeca*

Im Ansatz mit 151-IP9 finden sich sehr starke Schwankungen, sowohl von Konzentration zu Konzentration, als auch in den Parallelansätzen. Die Reproduktionsrate liegt im Ansatz mit IP9 in den Konzentrationen 1, 2 und 50 mL/L unterhalb der Kontrolle, in den Konzentrationen 10 und 20 mL/L oberhalb der Kontrolle. Im Ansatz mit 151-IP9 dagegen ist die Reproduktionsrate gegenüber der Kontrolle bei 1 und 50 mL/L erniedrigt, bei 2 und 10 mL/L dagegen deutlich erhöht, auch gegenüber dem IP9-Ansatz. In der Konzentration 20 mL/L haben IP9 und 151-IP9 ungefähr den gleichen Wert (Abb. 3.15).



**Abb. 3.15.** Ergebnisse der Collembolentests mit *Sinella coeca*. Testlösungen: IP9 und 151-IP9. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. Die durchgezogene Linie markiert die Zahl eingesetzter adulter Collembolen zu Testbeginn. Aufgrund der prozentualen Darstellungsweise liegt diese Linie bei 21%, da hier 5 Collembolen 21% der Kontrolle entsprechen. Endet eine Säule unterhalb dieser Linie, fand keine Reproduktion der Collembolen statt. Standardabweichungen können hier, da es sich nur um Parallelansätze handelt, deren Ergebnisse zudem mit starken Schwankungen behaftet sind, nicht angegeben werden.

Im Versuch mit IP21 und IP21 dot. wird die Reproduktionsrate durch IP21 in den Konzentrationen 2 und 10 mL/L gegenüber der Kontrolle stark stimuliert, bei 20 mL/L entspricht sie ungefähr der Kontrolle. 0,5 mL Eluat/L hemmen die Reproduktion dagegen gegenüber der Kontrolle. Bei IP21 dot. entspricht die Reproduktionsrate im 0,5 mL/L- und im 10 mL/L Ansatz ungefähr derjenigen der Kontrolle, in den Konzentrationen 2 und 20 mL/L liegt sie etwas niedriger (Abb. 3.16, S. 61). Die Tests lassen keine Aussage zur Toxizität der Eluate zu.



**Abb. 3.16.** Ergebnisse der Collembolentests mit *Sinella coeca*. Testlösungen: IP21 und IP21 dot. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. Die durchgezogene Linie markiert die Zahl eingesetzter adulter Collembolen zu Testbeginn. Aufgrund der prozentualen Darstellungsweise liegt diese Linie bei 12%, da hier 5 Collembolen 12% der Kontrolle entsprechen. Endet eine Säule unterhalb dieser Linie, fand keine Reproduktion der Collembolen statt. Standardabweichungen können hier, da es sich nur um Parallelansätze handelt, deren Ergebnisse zudem mit starken Schwankungen behaftet sind, nicht angegeben werden.

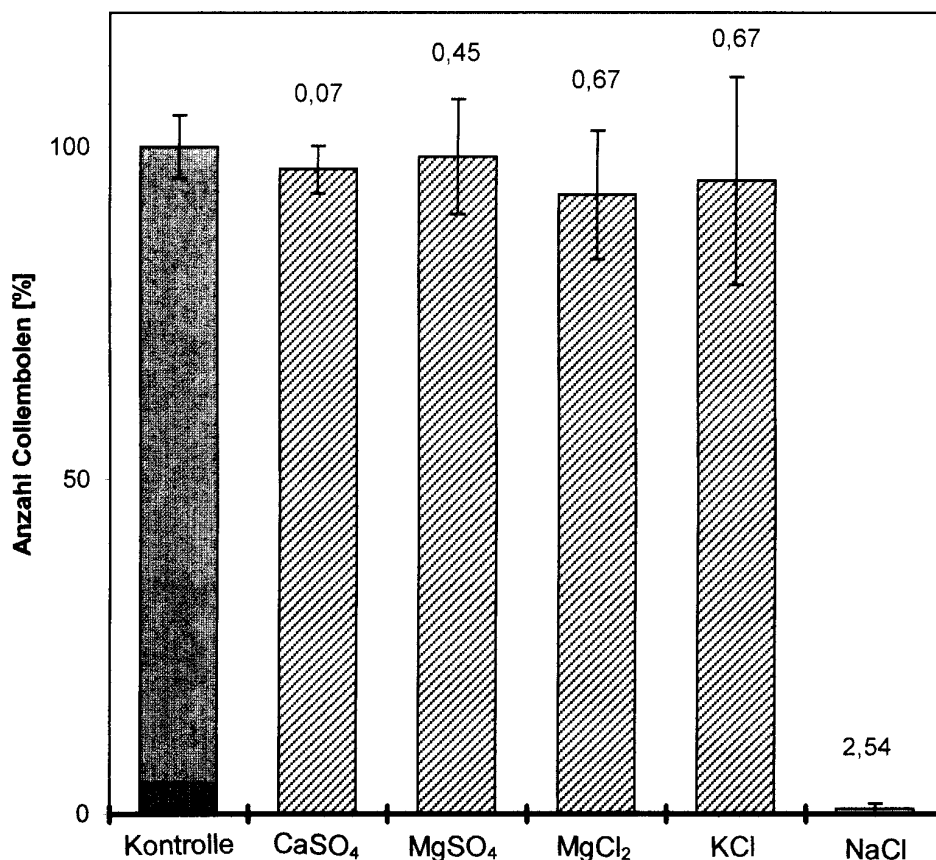
### 3.7 Versuche mit *Folsomia candida* und verschiedenen Salzen

Abb. 3.17, S. 62, zeigt die Ergebnisse aus den Tests mit den einzelnen Salzen in den jeweils für die auf 50 mL/L verdünnte IP9-Lösung relevanten Konzentrationen. Einen negativen Effekt auf die Reproduktionsrate bzw. die Entwicklung der Collembolen hat hier nur das von allen Salzen am höchsten konzentrierte NaCl. Alle anderen Salze liegen in Konzentrationen vor, die für die Reproduktion von *F. candida* einzeln offensichtlich nicht schädlich sind. Tab. A.15 (Anhang) zeigt die Ergebnisse aller hier durchgeführten Tests.

Ein Vergleich zwischen NaCl und Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ergibt bei gleicher Na-Konzentration (1 g / kg Boden) einen deutlichen Unterschied (Abb. 3.18, S. 63).

Die Reproduktionsrate für Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> entspricht ungefähr derjenigen der Kontrolle, während unter NaCl-Einfluß keine Reproduktion stattfindet und nach Testende nur einige überlebende adulte Individuen gefunden werden. Lediglich nach Verdoppelung der Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Konzentration kommt es zu einem deutlichen Negativeffekt. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei einem Vergleich von AlCl<sub>3</sub> und Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub> und MgSO<sub>4</sub> bzw. CaCl<sub>2</sub> und CaSO<sub>4</sub> (Chlorid-Konzentration wie im NaCl-Ansatz, Kationenkonzentrationen der Sulfate entsprechend denjenigen in den Chloriden). Im CaCl<sub>2</sub>-Ansatz können wenige Juvenile nachgewiesen werden. Werden

MgCl<sub>2</sub> und MgSO<sub>4</sub> gemeinsam so eingewogen, daß die Gesamt-Mg-Konzentration derjenigen aus den Einzelansätzen entspricht, liegt die Reproduktionsrate ebenfalls im Bereich der Kontrolle. Im umgekehrten Fall dagegen (Ca, Mg und Na als kombinierte Kationen, Chlorid in der dem NaCl-Ansatz entsprechenden Konzentration) kommt es zu einer starken Reproduktionshemmung.

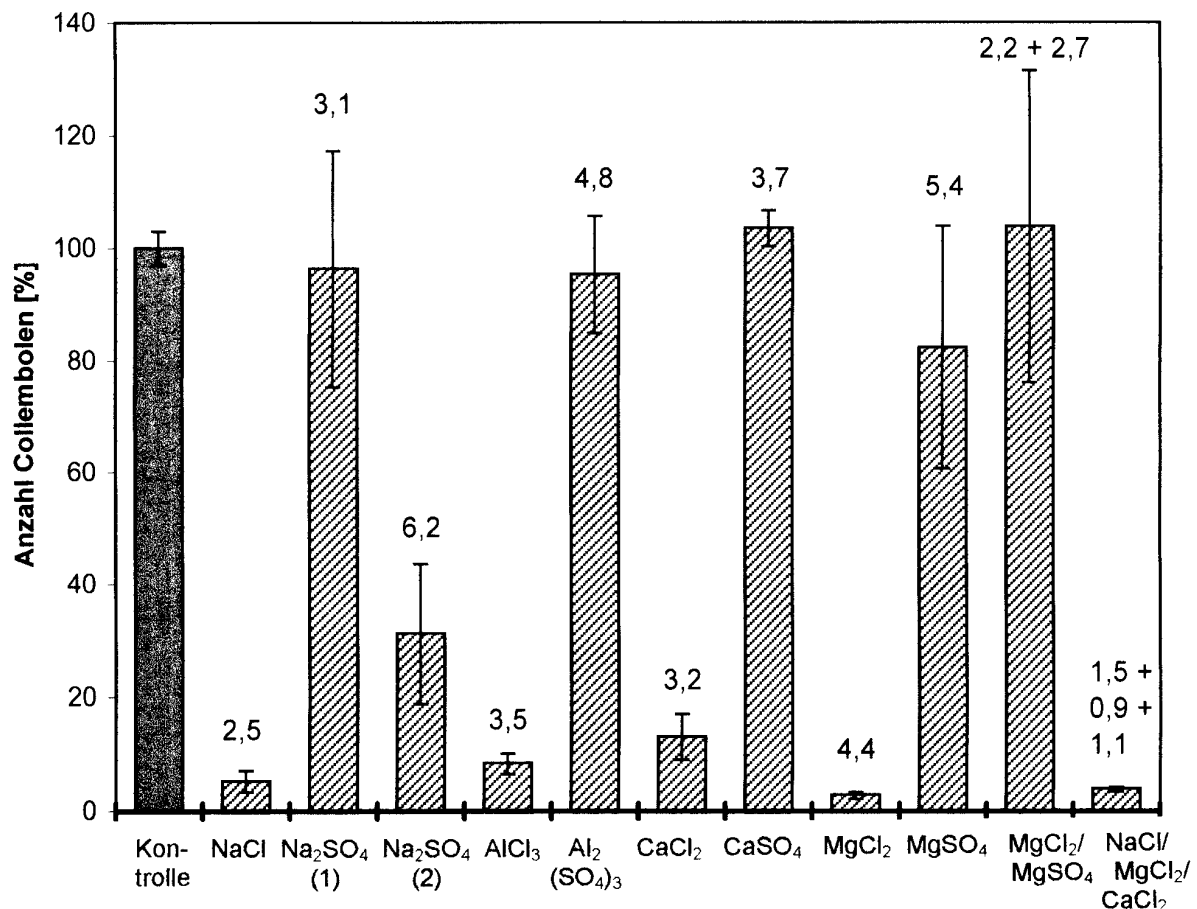


**Abb. 3.17.** Collembolentest mit *Folsomia candida*. Untersuchung der einzelnen, in der 50 mL/L-verdünnten IP9-Lauge enthaltenen Salze. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. Die Konzentrationen der einzelnen Salze sind über den Säulen in g/kg Trockenbodengewicht angegeben.

Die Chloride der Schwermetalle Co, Fe, Cu, Mn, Sr und Sn Zinn sowie die Sulfate von Co, Cu und Zn hemmen die Reproduktion von *F. candida* vollständig (Abb. 3.19, S. 64). Die Sulfate von Fe und Mn reduzieren die Reproduktionsrate dagegen nur um etwa die Hälfte der Kontrolle.

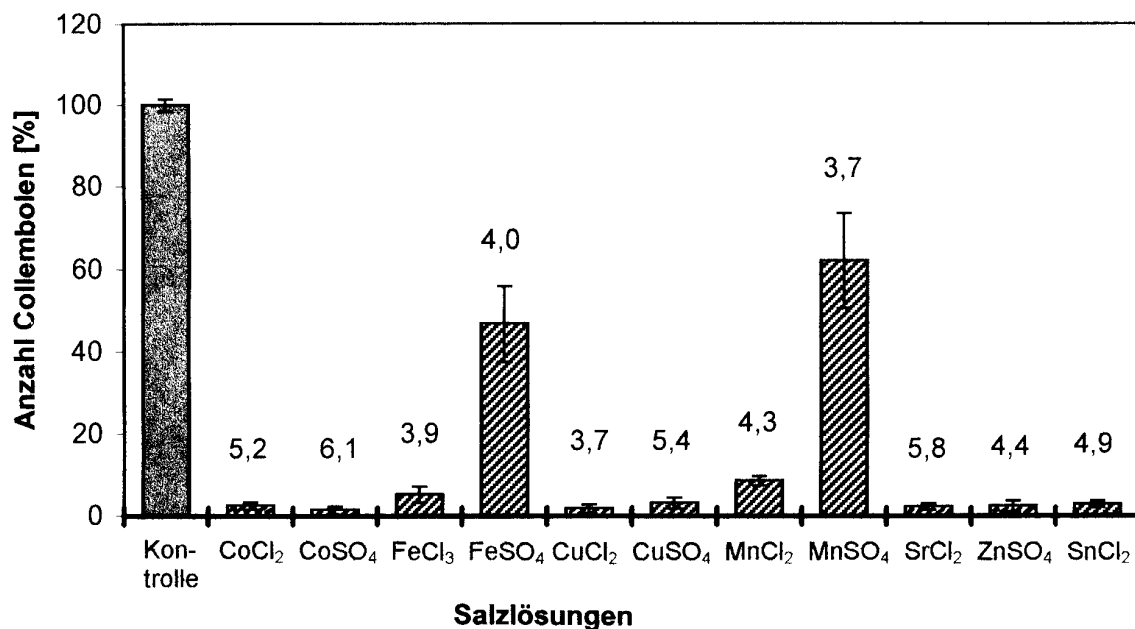
Die getesteten Nitrate Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> und Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> hemmen ebenfalls beide die Reproduktion vollständig (Abb. 3.20, S. 64). Werden die überlebenden Collembolen aus den drei Cobaltansätzen (Chlorid, Sulfat, Nitrat), die nach dem Einsetzen in die Versuchsgefäße nicht

wuchsen, nach Versuchsende in unkontaminierten Boden gesetzt, erreichen sie das Adultstadium und weisen eine normale Reproduktionsrate auf.

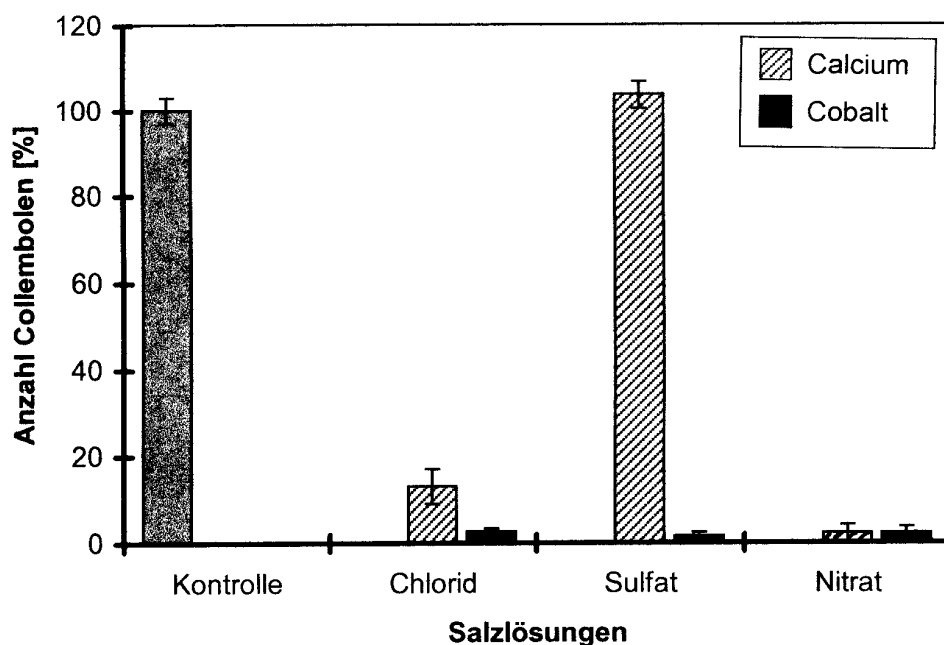


**Abb. 3.18.** Collembolentest mit *Folsomia candida*. Vergleich von Chloriden und Sulfaten. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. AlCl<sub>3</sub> als Hexahydrat, Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> als 18-Hydrat, CaCl<sub>2</sub> und CaSO<sub>4</sub> jeweils als Dihydrat, MgCl<sub>2</sub> als Hexahydrat, MgSO<sub>4</sub> als Heptahydrat. Die Konzentrationen der einzelnen Salze sind über den Säulen in g/kg Trockenbodengewicht angegeben.

Fazit: Alle eingesetzten Chloride hemmen in der Konzentration, die der Chlorid-Konzentration des NaCl-Ansatzes entspricht, die Reproduktion der Collembolen nahezu vollständig (Abb. 3.19, S. 64). Die entsprechenden Sulfate dagegen beeinflussen in den meisten Fällen die Reproduktionsrate überhaupt nicht negativ oder zumindest weniger stark als die Chloride. Lediglich die Sulfate von Co, Cu und Zn hemmen die Reproduktion vollständig.



**Abb. 3.19.** Collembolentest mit *Folsomia candida*. Vergleich von Chlorid- und Sulfat-Schwermetallsalzen. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. CoCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub> und SnCl<sub>2</sub> als Hexahydrate, CoSO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub> und ZnSO<sub>4</sub> als Heptahydrate. CuCl<sub>2</sub> und SrCl<sub>2</sub> als Dihydrate, CuSO<sub>4</sub> als Pentahydrat, MnCl<sub>2</sub> als Tetrahydrat, MnSO<sub>4</sub> als Monohydrat. Die Konzentrationen der einzelnen Salze sind über den Säulen in g/kg Trockenbodengewicht angegeben.

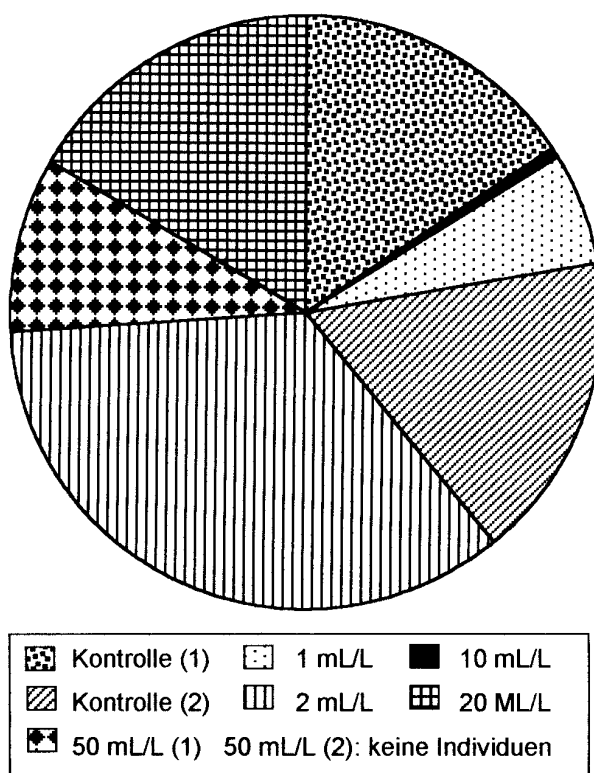


**Abb. 3.20.** Collembolentest mit *Folsomia candida*. Vergleich der Chloride, Sulfate und Nitrate von Calcium und Cobalt. Die Kontrolle (Boden mit Leitungswasser; graue Säule) ist auf Reproduktionsrate = 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu prozentual in Beziehung gestellt. CaCl<sub>2</sub> und CaSO<sub>4</sub> als Dihydrate, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> als Tetrahydrat, CoCl<sub>2</sub> als Hexahydrat, CoSO<sub>4</sub> als Heptahydrat, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> nicht hydratisiert.

### 3.8 Kontakt-Papier-Test mit Collembolen

In den mit der Q-Lauge Beienrode und den Eluaten 151-IP9, 153-GW, 153-IP9 und 204-IP9 durchgeführten Tests können keine eindeutigen Repellent-Effekte oder Präferenzen festgestellt werden. Beispielhaft wird hier das Ergebnis für die Q-Lauge Beienrode demonstriert (Abb. 3.21 und Tab. A.16 im Anhang). Die Verteilung scheint willkürlich zu sein und liefert keinen Hinweis auf toxische Effekte. So halten sich z. B. bei 10 mL/L kaum Individuen auf, während sich bei 2mL/L mehr als ein Viertel der eingesetzten Tiere befinden.

Verteilung der Collembolen [%]



**Abb. 3.21.** Kontakt-Papier-Test mit *Folsomia candida*. Testlösung: 204-IP9. Segmentanordnung entspricht der Anordnung der Filterpapiersegmente im Versuch. Anzahl der eingesetzten Collembolen: 200 Individuen. Kontrolle: Leitungswasser. Angabe der Verteilung der Collembolen auf die verschiedenen Segmente in %. Doppelter Ansatz der Konzentration 50 mL/L: bei dem Ansatz zwischen 20 mL/L und Kontrolle: 0 Individuen. In der Mitte (Ort des Einsatzes der Collembolen) befinden sich bei Auszählung 25,5% der Individuen.

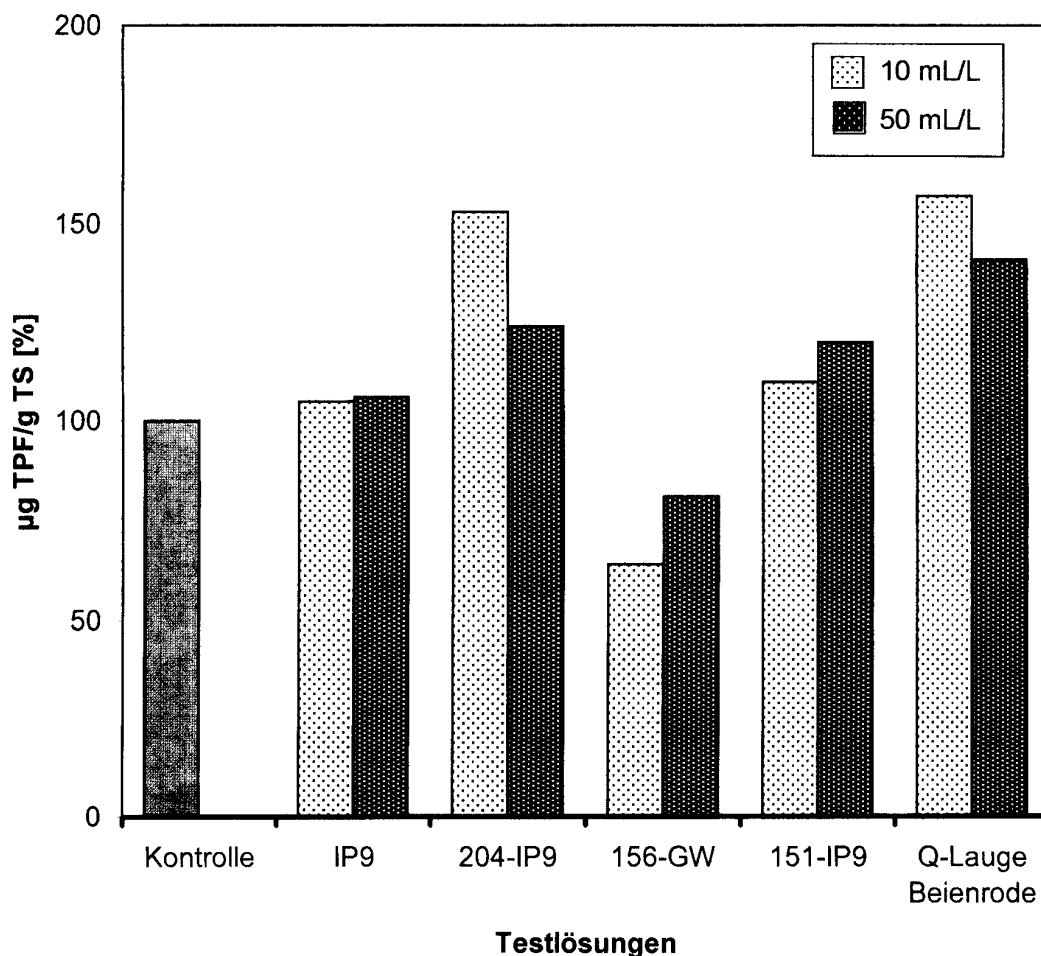
### 3.9 Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität (DHA) mit 2,3,5-Triphenyltetrazolium-chlorid

204-IP9, insbesondere bei 10 mL/L, 151-IP9 (geringfügig bei 50 mL/L) und die Q-Lauge Beienrode scheinen die DHA gegenüber der Kontrolle zu stimulieren. Schadstofffreie IP9-Lauge



und 10 mL 151-IP9/L zeigen keine deutlichen Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle. 156-GW hemmt die DHA gegenüber der Kontrolle, in der 10 mL/L-Verdünnung jedoch stärker als in der 50 mL/L-Verdünnung (Abb. 3.22).

Der Vergleich von DHA und Sauerstoffverbrauch der Bodenmikroorganismen (im Sapromaten) liefert die in Tab. 3.6 aufgeführten Ergebnisse.



**Abb. 3.22.** Dehydrogenase-Aktivität der Mikroorganismen im LUFA 2.2 Boden nach Versetzen und Inkubation mit 10 mL bzw 50 mL/L verdünnter Testlösung. TPF: Triphenyltetrazoliumformazan. TS: Trockensubstanz. Kontrolle (Boden mit Leitungswasser) ist auf 100% gesetzt, die übrigen Werte sind dazu in Beziehung gestellt.

150-IP9 verursacht eine Erhöhung der DHA in den eingesetzten Konzentrationen (10 mL/L und 50 mL/L). Dieses spiegelt sich jedoch im Sapromat-Versuch nicht wider. Im Gegensatz zum zuvor beschriebenen Versuch stimuliert 204-IP9 die DHA hier nicht, sondern liegt bei 10 mL/L deutlich, bei 50 mL/L leicht unterhalb der Kontrolle. Dagegen hat der Boden aus dem 50 mL/L Ansatz einen deutlich höheren Sauerstoffverbrauch als die Kontrolle. Insgesamt scheinen für die hier verwendeten Testlösungen der Sauerstoffverbrauch und die DHA nicht korreliert zu sein. Auch lassen sich keine Toxizitäten ableiten.

**Tab. 3.6.** Dehydrogenase-Aktivität (DHA) und Sauerstoffverbrauch der Bodenmikroorganismen in kontaminiertem Boden (Mittelwerte aus Doppelbestimmungen).

Testansatz	Sauerstoffverbrauch in mg O <sub>2</sub> / 100g Boden	DHA entsprechend µg TPF/g TS
Kontrolle	30,5	77,6
IP9; 50 mL/L	19,5	77
150-IP9; 10 mL/L	29,5	132,4
150-IP9; 50 mL/L	22,5	166,1
204-IP9; 10 mL/L	27,5	50,5
204-IP9; 50 mL/L	45	74,40

### 3.10 Tests mit *Artemia salina*

Der nur mit 202-IP9 durchgeführte Test liefert deutliche Ergebnisse. Die Artemien können in der schadstofffreien IP9-Lauge (50 mL/L verdünnt) leben und sich fortpflanzen. Im verdünnten Eluat von 202-IP9 (1 mL/L und 2 mL/L) dagegen überleben sie nur wenige Tage. Eier entwickeln sich in den Schadstoffansätzen nicht, sondern verschimmeln. Für einen groß angelegten Versuch reichen jedoch die Raum- und Gerätekapazitäten nicht aus, da der Versuch in der Klimakammer durchgeführt und jedes Versuchsgefäß einzeln belüftet werden muß. Zur Untersuchung eines Eluats in fünf verschiedenen Verdünnungen und vier Parallelen wären bereits – inklusive Kontrolle – 24 Belüftungsschläuche notwendig. Aus diesem Grund wird der Test nicht weiter fortgeführt.

### 3.11 Tests mit *Isotoma viridis*

Die Tiere zeigen gegenüber höheren Salzkonzentrationen keine höhere Überlebensrate als *Folsomia candida*. Die Reproduktionsrate der Tiere ist bereits in der Zucht auf üblichem, salzfreiem Gips-Aktivkohle-Substrat extrem gering. Im Zuchtansatz mit salzhaltigem Gips-Aktivkohle-Substrat kommt es zu gar keiner Fortpflanzung. Dieser Test wird deshalb ebenfalls nicht weiter verfolgt.

### 3.12 Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse

Die Ergebnisse von MICROTOX™-, MUTATOX™- und Hemmtest nach OFFHAUS werden in einer Tabellen-Übersicht (Tab. 3.7) noch einmal ohne und mit Bodeneinfluß aufgelistet. Anhand dieser Übersicht werden die Unterschiede zwischen den verschiedenen Abfalleluaten, aber auch zwischen den unterschiedlichen Tests deutlich.

**Tab. 3.7.** Ergebnisse der Sapromat-, MICROTOX- und MUTATOX-Tests vor und nach Bodenbehandlung.

nicht toxisch: ○ geringe bis mittlere Toxizität ( $EC_{50} > 10$  mL/L): ⊗  
 hohe Toxizität ( $EC_{50} < 10$  mL/L;  $> 1$  mL/L): ● sehr hohe Toxizität ( $EC_{50} < 1$  mL/L): ●  
 Stimulation: □ keine Mutagenität: △ Mutagenität: ▲ -- : nicht bestimmt.

Testlösung	MICROTOX™ EC <sub>50</sub> [mL/L]		MUTATOX™ mutagener Konz.- Bereich [mL/L]		Sapromat EC <sub>50</sub> [mL/L]	
	Boden- behandlung		Bodenbehandlung		Boden-behandlung	
	nein	ja	nein	ja	nein	ja
205 IP9	●	⊗	▲	▲	⊗	--
204 IP9	--	--	--	--	●	●
204 GW	⊗	--	--	--	--	--
202 IP21	●	--	▲	--	●	--
202 IP9	●	●	▲	▲	●	●
202 GW	●	●	▲	--	●	--
158 IP21	⊗	○	--	--	⊗	--
158 IP9	○	○	--	--	⊗	--
158 GW	⊗	○	△	--	○	--
157 IP21	⊗	○	--	--	⊗	--
157 IP9	□	○	--	--	○	--
157 GW	●	⊗	▲	--	⊗	--
156 IP9	⊗	⊗	▲	--	⊗	--
156 GW	⊗	⊗	▲	--	□	--
155 IP21	○	⊗	▲	--	○	--
155 IP9	⊗	⊗	▲	▲	□	--
155 GW	●	⊗	▲	--	□	--
153 IP21	●	○	▲	△	⊗	○
153 IP9	●	⊗	▲	--	⊗	○
153 GW	●	○	△	--	●	○
151 IP21	●	⊗	--	--	⊗	--
151 IP9	□	○	--	--	○	--
151 GW	●	□	--	--	⊗	--
150 IP21	⊗	○	--	--	⊗	--
150 IP9	⊗	□	--	--	□	--
150 GW	●	□	--	--	⊗	--
IP21-dot.	●	●	--	--	●	⊗
Q-Lauge- Beienrode	--	--	--	--	⊗	--
IP21	○	○	--	--	○	○
IP9	○	○	--	--	○	○

Regenwurm- und Collembolentests zeigen bei niedrigeren Eluatkonzentrationen keine deutlichen Effekte und bei höheren Konzentrationen starke Salzeffekte. Eine Untersuchung von Salzeffekten im Collembolentest zeigt, daß Chloride und Nitrate im allgemeinen wesentlich toxischer wirken als Sulfate.

Der Kontaktpapiertest mit Collembolen und die Bestimmung der DHA liefern keine verwertbaren Ergebnisse. Ebenfalls nicht weiter verfolgt werden die Tests mit *Artemia salina* und *Isotoma viridis*.

## 4. Diskussion

Ziel der Arbeit ist die Zusammenstellung und Erprobung ökotoxikologischer Testverfahren für UTD-relevante Abfalleluate. Dabei werden größtenteils aus bereits etablierten Tests (STEINBERG et al. 1993) solche ausgewählt, die für dieses Probenmaterial geeignet erscheinen.

Die Kriterien, die zur Auswahl der hier erprobten Tests geführt haben, werden im folgenden geschildert und diskutiert. Die Eignung der verschiedenen Tests wird bewertet und ihre Empfindlichkeit beurteilt. Im Vorfeld werden dazu einige Beispiele der Wirkung von Schwermetallen und der Aufnahme von Schadstoffen in Organismen beschrieben. Anschließend erfolgt eine Interpretation der Test-Ergebnisse unter Betrachtung der chemischen Analyse der Abfalleluate.

Der Einfluß der Bodenmatrix auf die Toxizität der Eluate wird anhand des LUFA 2.2-Testbodens betrachtet und bewertet. Die Auswirkung von Sorptionsmechanismen werden mit Hilfe dieses Bodens und verschiedener Tonminerale sowie Humussäure aufgezeigt.

Inwieweit Ergebnisse aus Laborversuchen auf Freilandbedingungen übertragbar sind und welche Probleme dabei auftreten können, wird diskutiert.

In einer abschließenden Betrachtung wird aufgeführt, welche Konsequenzen auf der Basis der Ökotoxizitätstests für die Lagerung der UTD-relevanten Abfälle gezogen werden sollten.

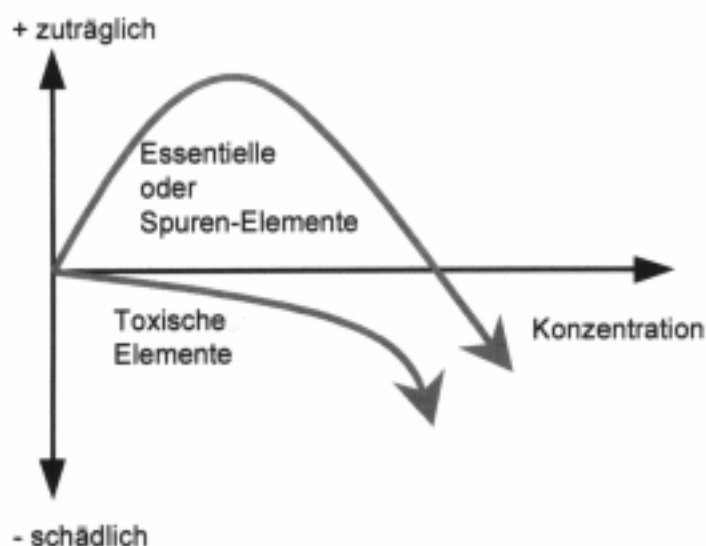
### 4.1 Wirkung von Schwermetallen

Obwohl einige Schwermetalle in geringen Konzentrationen essentiell für Organismen sind, können sie in steigenden Konzentrationen starke Schädigungen hervorrufen (Abb. 4.1), da sie (als Elemente) nicht abbaubar sind, sich in der Umwelt anreichern und Ökosysteme schon in geringen Konzentrationen beeinträchtigen können (z. B. GADD und GRIFFITHS 1978).

Verunreinigungen durch Schwermetalle können schwerwiegende Veränderungen in der Mikroflora und den damit verbundenen Prozessen bewirken (HAIDER 1996). JORDAN und LECHEVALIER (1975, cit. ex HAIDER 1996) fanden in einem mit Zn kontaminierten Boden deutlich weniger Actinomyceten, Bakterien und Pilze als im unkontaminierten Boden. Der Anteil der Pilze, der prozentual meist am geringsten ist gegenüber der restlichen mikrobiellen Biomasse, war im kontaminierten Boden am höchsten. Offensichtlich reagierten Actinomyceten und Bakterien auf Zn empfindlicher als Pilze. Für Cu wurden ähnliche Effekte gefunden (RIBEIRO et al. 1972, cit. ex HAIDER 1996). Auch FLIESSBACH und REBER (1991) stellten schon bei Schwermetallgehalten, die erheblich unterhalb der derzeit gültigen Grenzwerte lagen, eine deutliche Reduktion bodenmikrobieller Parameter fest. Die Aktivität der

Bodenmikroflora reagierte wesentlich empfindlicher auf eine Schwermetallbelastung, als die Biomasse.

Die Wirkung von Schwermetallen hängt von ihrer Speziation ab (s. auch Kap. 4.5). Das freie Metall-Ion ist nach TATARA et al. (1997) die am stärksten bioaktive Spezies, aber auch lipophile Metallkomplexe können unter bestimmten Testbedingungen eine große Rolle spielen. Komplexierte Metalle wirken häufig weniger toxisch als freie Metallionen (BABICH und STOTZKY 1980, 1986). Wird jedoch ihre Wasserlöslichkeit oder Lipophilie durch Komplexierung erhöht, kann die Toxizität zunehmen. Anhand dieser Ausführungen wird deutlich, wie problematisch die Beurteilung der Toxizität komplexer Schadstoffgemische z. B. in den hier getesteten Eluaten sein kann. Eine genaue Zuordnung der toxischen Effekte zu den Inhaltsstoffen ist im allgemeinen kaum möglich, da mit Hilfe der Elementanalytik nur Vermutungen über die Speziation der Schwermetalle gemacht werden können.



**Abb. 4.1.** Wirkung von essentiellen und nicht-essentiellen Schwermetallen in Abhängigkeit ihrer Konzentration (nach THOMSON 1977; cit ex. HAIDER 1996)

Betrachtet man die Wirkung der schwermetallhaltigen Abfalleluate im MICROTOX-Test, muß aufgrund der akuten toxischen Effekte von einer für die Proteinbiosynthese nicht spezifischen, im folgenden als unspezifisch bezeichneten Wirkungsweise der Schwermetalle ausgegangen werden (BACKHAUS et al. 1997; s. auch Kap. 4.3.1). Bei den Abfalleluaten verläuft die Zunahme des Hemmeffektes während der 30 minütigen Testzeit langsam, aber konstant und erreicht nach 30 min im allgemeinen bereits niedrige  $EC_{50}$ -Werte. Diese Wirkungsweise von Schwermetallen wird auch bei BECKMAN (1980) und HAUSER (1996) beschrieben.

Zur ökotoxikologischen Wirkung von Schwermetallen gibt es bereits zahlreiche Untersuchungen. CODINA et al. (1993) untersuchten die Toxizität von Schwermetallen in verschiedenen mikrobiologischen Tests und stellten fest, daß der MICROTOX<sup>TM</sup>-Test (neben dem Bakterien-Wachstums-Hemmtest mit *Pseudomonas fluorescens*) am empfindlichsten auf Cu, Hg und Zn reagierte. Dieses bestätigen auch die Untersuchungen von DUTKA et al. (1983) und DUTTON et al. (1986). Die toxischen Wirkungen von Cd, Cr und Ni auf die Leuchtbakterien waren dagegen geringer.

BOIS et al. (1988) entdeckten, daß Cr, Cu und Zn, eingesetzt als K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, CuSO<sub>4</sub> und ZnSO<sub>4</sub>, in komplexe Interaktionen treten und so eine deutliche Toxizität im Leuchtbakterien-test hervorrufen. Zwischen Cr und Cu fanden sie einen Antagonismus, während zwischen Cu und Zn ein Synergismus festzustellen war. Die Interaktionen zwischen Cr und Zn hingen von der Zn-Konzentration ab. Die Autoren schließen daraus, daß es wenig Nutzen hätte, die Konzentrationen dieser drei Metalle in einer Umweltprobe gleichmäßig zu senken, sondern daß es sinnvoller wäre, zunächst Zn und Cr zu entfernen, soweit möglich. Reihenfolge und Ausmaß der Elimination dieser Metalle aus Umweltproben sollten sich nach der Ausgangssituation und deren Grad der gewünschten Toxizitätsminderung richten.

NOTTROT et al. (1987) stellten bei *Orchesella cincta* (Collembola) eine Minderung der Fraßaktivität und des Wachstums unter Einfluß von Fe fest, während Mn in den getesteten Konzentrationen auf diese Parameter wirkungslos blieb. Mn erniedrigte jedoch die Eisenaufnahme, umgekehrt hatte Fe aber keinen Einfluß auf die Mn-Aufnahme.

Cd und Zn in Kombination wirken auf das Wachstum von *Folsomia candida* hauptsächlich antagonistisch, auf die Reproduktion dagegen hauptsächlich additiv (VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997).

CLEVEN et al. (1993) stellten fest, daß Zn für Mikroorganismen toxischer ist, als für Tiere oder Pflanzen. Mit der Zeit können Mikroorganismen jedoch zunehmend resistenter gegen toxische Einflüsse von Schwermetallen werden (HAIDER 1996). Dieses wiederum kann weitreichende Folgen haben. DOELMAN et al. (1994) fanden heraus, daß die Metabolisierungskapazität Cd- und Zn-resistenter Mikroorganismen für aromatische Verbindungen geringer war, als diejenige Cd- und Zn-sensitiver Mikroorganismen. Dieses verdeutlicht, daß Schwermetall-Resistenz die Fähigkeit der Mikroorganismen, Stoffe abzubauen, verschlechtern kann.

Die vielfältigen Wirkungen und gegenseitigen Beeinflussungen demonstrieren, wie schwierig eine Voraussage toxischer Effekte durch komplexe Schadstoffgemische z. B. mit hoher Schwermetall-Konzentration zwangsläufig sein muß. Eine retrospektive Beweisführung, die darauf abzielt, daß eine bestimmte Substanz oder ein Substanzgemisch für eine bestimmte Veränderung verantwortlich ist, ist daher sehr diffizil und stellt in der Ökotoxikologie ein grundsätzliches Problem dar (NAGEL 1988).

#### 4.2 Aufnahme von Schadstoffen in Organismen

Die Aufnahme von Schadstoffen spielt beim Auslösen toxischer Effekte eine große Rolle. Abhängig davon, wie die Hautstruktur oder äußere Hülle der Organismen und die Schadstoffe der Testsubstanz beschaffen sind, und auch davon, wie die Nahrungs- oder Nährstoffaufnahme erfolgt, sind verschiedene Aufnahmewege möglich. Bei der Auswahl der Testorganismen sollten daher verschiedene Aufnahme-Typen berücksichtigt werden. Bakterien, Regenwürmer und Collembolen vertreten in den vorliegenden Untersuchungen drei verschiedene Aufnahmewege.

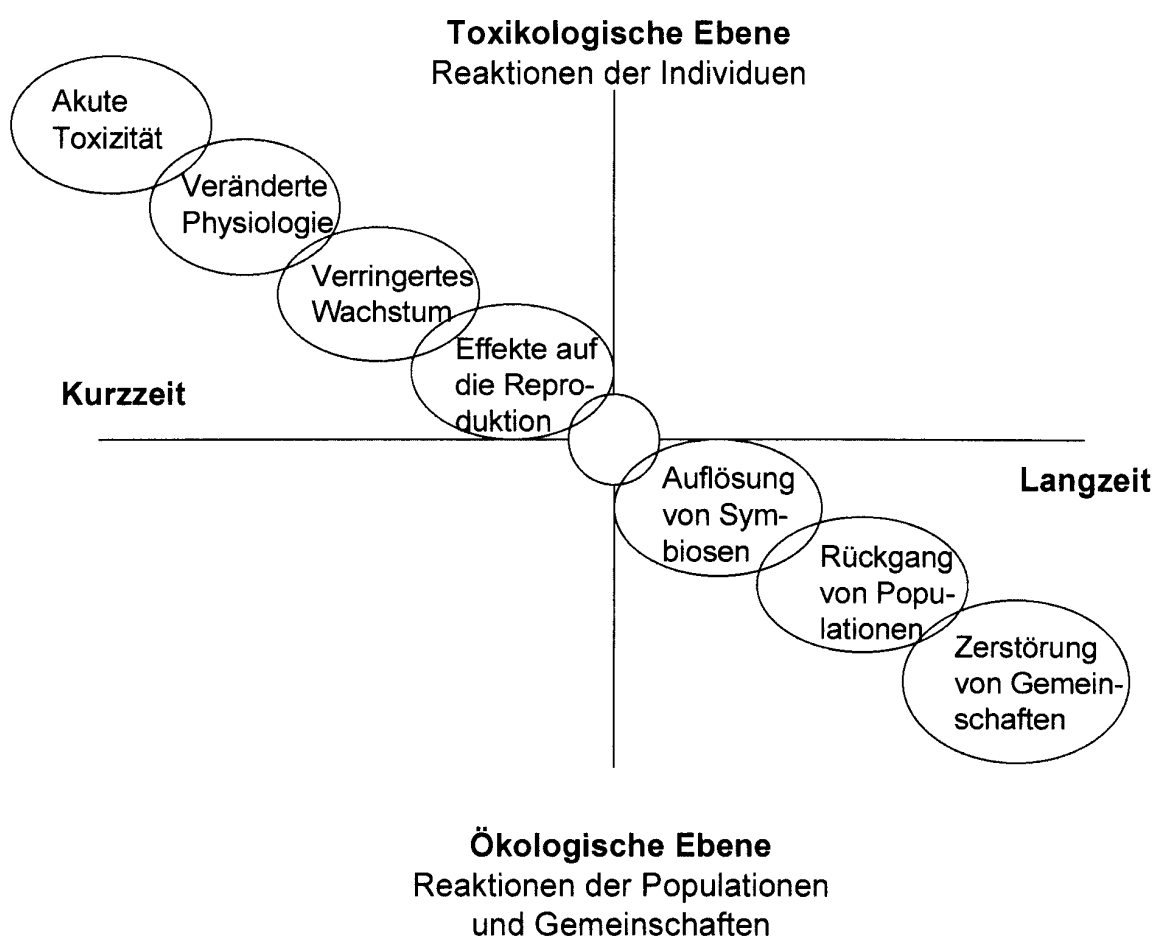
Bei Bakterien erfolgt die Aufnahme aus dem umgebenden Medium über die Zellmembran in Form der Endocytose. Bei vielen Organismen, z. B. Regenwürmern, ist eine permeable Hautstruktur ausgebildet, die nicht nur Wasser und Atemgase, sondern auch Schwermetalle und lipophile (Schad-)Stoffe passieren läßt. Die Biokonzentration lipophiler Stoffe aus Wasser (auch aus Boden-Porenwasser) ist hauptsächlich ein Verteilungsvorgang zwischen wässriger Phase und Lipidfraktion dieser Organismen und korreliert mit dem n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten (KORTE 1992). Bei Tieren mit relativ undurchlässiger Hautstruktur, wie z. B. Collembolen, bleibt zur Aufnahme von Schadstoffen im Prinzip nur die Aufnahme auf oralem Wege und über den Ventraltubus, der bei Collembolen eine bedeutende Rolle in der Feuchtigkeits- und Ionenaufnahme spielt (HOPKIN 1997). Dadurch finden sich bei solchen Tieren langsamere Aufnahme- aber auch Eliminationsraten. PEIJNENBURG et al. (1998) diskutieren den Aspekt der Aufnahme von Schwermetallen durch Collembolen. Ein Weg ist immer die Aufnahme der Schadstoffe durch kontaminierte Nahrung. *Folsomia fimetarioides* z. B. kann jedoch kontaminierte Nahrung meiden, während *Isotomiella minor* dazu nicht in der Lage ist (TRANVIK und EIJSSACKERS, 1989). Ist jedoch nur das Porenwasser kontaminiert, fällt dieser Weg prinzipiell aus. Hier könnte es zur Aufnahme über einen der Nahrung anhaftenden Wasserfilm (PEIJNENBURG et al. 1998) kommen.

Während und nach der Aufnahme, d. h. bei Verstoffwechselung (z. B. Epoxidierung in der Leber, Methylierung) durch die Organismen, kann eine Veränderung der Stoffe erfolgen. Mikroorganismen z. B. können Metalloxide oder –sulfide in Alkylderivate umwandeln. Dies sind meist ein- oder mehrfach methylierte Derivate, die aufgrund der Methylgruppen fettlöslicher sind und von anderen Organismen leichter aufgenommen werden (HAIDER 1996). So kann ein Stoff vor Aufnahme durch einen Organismus ein völlig anderes toxikologisches Potential haben als nach Aufnahme und Veränderung (z. B. HAUSER 1996). Dieses ist bei der Interpretation toxischer Effekte zu berücksichtigen und kann z. B. anhand des MUTATOX™-Tests deutlich gemacht werden, wenn Medien mit und ohne S9 Mix verwendet werden.



#### 4.3 Beurteilung der Auswahlkriterien, Empfindlichkeit der Tests und Eignung für UTD-relevante Abfalleluate

Testsysteme, die ein schnelles Abschätzen des ökotoxikologischen Potentials ermöglichen, sind für Umweltproben gut geeignet. Die Auswahl eines gut handhabbaren Tests, der ein sofortiges Screening möglich macht, ist schon allein deshalb sinnvoll, weil bei Umweltproben häufig ein schnelles Handeln notwendig ist. Dieses Auswahlkriterium trifft auf den MICRO-TOX™-Test, den MUTATOX™-Test und mit Einschränkung, da der Test über 5 Tage läuft, auch auf den Hemmtest nach OFFHAUS zu und hat sich in Verbindung mit den UTD-relevanten Abfalleluaten bewährt. Regenwurm- und Collembolentests sind dagegen Langzeittests über 28 Tage. Solche Langzeittests können für die Beurteilung einer chronischen Toxizität notwendig sein. Wie Kurz- und Langzeiteffekte miteinander verquickt sein können und wie ein Übergang von der toxikologischen Ebene zur ökologischen bzw. ökotoxikologischen Ebene im Ökosystem aussehen kann, zeigt Abb. 4.2.



**Abb. 4.2.** Hypothetische Wirkungsabfolge bedingt durch toxische Substanzen, in der potentielle Wirkungen über die Zeit und die verschiedenen ökologischen Organisationsstufen miteinander verbunden sind. Solche Beziehungen verknüpfen akute und subletale Effekte mit Langzeiteffekten innerhalb von und zwischen taxonomischen Gruppen und ermöglichen eine Vorhersage von Effekten auf ökosystemarer Ebene (verändert nach GUNDERSON et al. 1997).

Gerade bei Umweltproben spielen auch die Kosten der eingesetzten Tests eine wichtige Rolle, da häufig umfangreiches Probenmaterial vorliegt, das möglichst preisgünstig getestet werden sollte. Ist die Grundausstattung vorhanden, sind MICROTOX<sup>TM</sup>-Test, Hemmtest nach OFFHAUS, Regenwurm- und Collembolentest relativ günstige Tests, die mit wenig Material und geringem Personalaufwand durchzuführen sind. Lediglich der MUTATOX<sup>TM</sup>-Test ist aufgrund des Gewinnungsverfahrens der mutierten Bakterien kostenintensiver als die anderen Tests.

Für alle hier erprobten Tests gilt, daß sie von Laborpersonal ohne hohe Fach- und Sachkunde ausgeführt werden können und einfach in der Handhabung sind.

Nachfolgend werden die Tests bezüglich Auswahl, Empfindlichkeit und Eignung im einzelnen betrachtet.

#### 4.3.1 MICROTOX<sup>TM</sup>-Test

Der Leuchtbakterientest (BULICH 1986) ist ein standardisierter, gut handhabbarer Test, mit dem ein schnelles Screening durchgeführt und die akute Toxizität einer Probe bestimmt werden kann. Der Test ist bereits gut etabliert, und es liegen zahlreiche Untersuchungen über die Leuchtbakterientoxizität von Umweltchemikalien vor (z. B. CHANG et al. 1981; KREBS 1985; BITTON und DUTKA 1986; KAISER und PALABRICA 1991). Bei der Bewertung der Leuchtbakterientoxizität einzelner Stoffe oder Stoffgemische können daher häufig Literaturwerte zum Vergleich herangezogen werden. Die Testorganismen sind in sofort verwendbarer Form im Handel erhältlich. Der Test kann bei Vorhandensein der erforderlichen Geräte ohne Probleme im Labor unter nichtsterilen Bedingungen vom Laborpersonal durchgeführt werden.

Speziell für UTD-relevante Abfalleluat wurde dieser Test ausgewählt, weil die Leuchtbakterien als marine Organismen an Salz angepaßt sind und angenommen wurde, daß der Salzgehalt in den IP-Eluaten nicht limitierend wirkt.

Die Erprobung des MICROTOX<sup>TM</sup>- Tests bestätigt diese Annahme. Die verdünnten IP-Laugen beeinträchtigen die Lumineszenz der Leuchtbakterien nicht. Dabei muß jedoch die mangelnde Ökosystemrelevanz des Tests in Kauf genommen werden. Als marine Organismen sind Leuchtbakterien nicht relevant für ein Ökosystem, das im terrestrischen und limnischen Bereich liegt. Die (oberirdische) Umgebung einer UTD ist aber in diesem Bereich anzusiedeln. Aufgrund der vielen Vorteile der Leuchtbakterientests kann dieser Punkt jedoch, bei Anwendung weiterer Tests mit höherer Ökosystemrelevanz (z. B. mit limnischen Abwasser-Mikroorganismen) und anderen Bewertungskriterien, in Kauf genommen werden.

Ein großer Vorteil des Tests ist zum Beispiel auch, daß die einzige Veränderung, die die Eluate vor Untersuchung im MICROTOX<sup>TM</sup>-Test erfahren, eine Verdünnung mit ohnehin im

Eluat vorhandenen Substanzen (dest. Wasser und NaCl) ist. Es müssen also keine Stoffe zugesetzt werden, die die Bioverfügbarkeit oder Nicht-Bioverfügbarkeit der Eluat-Inhaltsstoffe verändern und damit Einfluß auf deren Toxizität nehmen, abgesehen davon, daß bei der Verdünnung der Eluate (Chloro-)Komplexe gebildet werden könnten, die möglicherweise die Toxizität verändern. Diese Verdünnungseffekte können aber auch unter ‚natürlichen Umständen‘, d. h. in einem ‚worst case‘, stattfinden.

Die im Vorfeld gemachten Überlegungen zur Auswahl des MICROTOX™-Tests für die Bewertung UTD-relevanter Abfalleluate haben sich in der Praxis bestätigt.

Der MICROTOX™-Test ist ein sehr empfindlicher Test, der bereits bei niedrigen Konzentrationen Effekte anzeigen kann. Dieses könnte im Gegenzug natürlich auch bedeuten, daß der Test falsche positive Resultate zeigt oder zwischen leicht und stark toxischen Proben nicht unterscheidet, weil er schon bei niedrigem Schadstoffgehalt starke toxische Effekte anzeigt. Das ist jedoch nicht der Fall. Trotz hoher Empfindlichkeit liefert der MICROTOX™-Test differenzierte Ergebnisse. Sie reichen von Nicht-Toxizität und Stimulation der Lichtemission bis zu Toxizität in niedrigeren und höheren Konzentrationen. So ist einerseits eine Differenzierung der verschiedenen Abfallarten, andererseits ein Vergleich der unterschiedlichen Elutionsmittel möglich.

Auch in Bezug auf die Eluate nach Bodenbehandlung liefert der MICROTOX-Test differenzierte Ergebnisse (s. Kap. 4.5). Die zum Teil erhebliche Sorption der Schadstoffe an die Bodenmatrix bzw. die Verringerung ihrer Bioverfügbarkeit wird deutlich, insbesondere bei den Eluaten, die ohne Bodeneinfluß bereits in niedrigen Konzentrationen stark leuchtbakterientoxisch sind, nach Bodenbehandlung aber keine Leuchtbakterientoxizität mehr aufweisen (s. Kap. 3.4.1.1). Anhand der Analytik kann dieses zum Teil überhaupt nicht vorausgesagt werden (s. Kap. 4.4 und 4.5).

BACKHAUS et al. (1997) verglichen den akuten Leuchtbakterientest mit dem chronischen Langzeittest mit *Vibrio fischeri*. Dabei entdeckten sie, daß spezifisch auf die Proteinbiosynthese wirkende Schadstoffe ihre möglicherweise hohe Toxizität erst im Langzeittest zeigen, während darauf unspezifisch wirkende Schadstoffe bereits im akuten Kurzzeittest eine hohe Toxizität aufweisen können. Dieses hängt laut BACKHAUS et al. (1997) damit zusammen, daß im Kurzzeittest keine Proteinbiosynthese notwendig ist, um die Biolumineszenz der Leuchtbakterien aufrechtzuerhalten, weil die Bakterien für den Test zum Zeitpunkt ihrer maximalen Biolumineszenz geerntet werden, so daß in der kurzen Zeit dieses Tests bei kurzer Standzeit keine Proteinsynthese stattfinden muß. Um ihre physiologischen Funktionen aufrechterhalten zu können, müssen die Bakterien jedoch während des Langzeittests von 24 Stunden Proteine synthetisieren, so daß hier die spezifisch auf die damit verbundenen Prozesse wirkenden Schadstoffe Effekte hervorrufen können. Unspezifisch wirkende Schadstoffe dagegen schädigen Prozesse, die mit der Bakterienmembran oder Proteinen im all-

gemeinen zusammenhängen. Daher ruft z. B.  $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  schon im Kurzzeittest einen starken toxischen Effekt hervor, während z. B. Chloramphenicol und Tetrazyklin erst im Langzeittest einen starken toxischen Effekt hervorrufen (BACKHAUS et al. 1997).

Die Inhaltsstoffe der Mehrzahl der im Rahmen dieser Arbeit getesteten Schadstofflösungen scheinen größtenteils unspezifisch zu wirken, wie sich anhand der niedrigen  $\text{EC}_{50}$ -Werte nach 30-minütiger Testzeit leicht erkennen läßt. Ausnahmen bilden die Eluate 158-IP21, 158-GW, 157-IP21, 156-IP9, 155-IP9 und 150-IP9 mit sehr hohen  $\text{EC}_{50}$ -Werten und 158-IP9, 155-IP21, die beide keine Hemmung der Lichtemission hervorrufen sowie die die Lumineszenz stimulierenden Eluate 157-IP9 und 151-IP9. Diese Eluate sind entweder weniger toxisch oder ihre Inhaltsstoffe wirken spezifisch.

Es ist nicht auszuschließen, daß die o. g. niedrigen  $\text{EC}_{50}$ -Werte in einem Langzeittest möglicherweise sogar noch niedriger lägen. Dagegen spricht jedoch die im allgemeinen geringere (Leuchtbakterien-) Toxizität der Abfalleluate im MUTATOX-Test, der wie der von BACKHAUS et al. (1997) angewendete Langzeittest über 24 Stunden läuft.

Dennoch wäre zur abschließenden Beurteilung der Leuchtbakterientoxizität der untersuchten Eluate die zusätzliche Anwendung eines Langzeittests durchaus sinnvoll.

KANNE (1989) stellt die Aussagekraft des MICROTOX<sup>TM</sup>-Tests in Frage, da die Leuchtbakterien nicht an komplexe Schadstoffgemische, wie z. B. Abwasser, angepaßt seien und deswegen Toxizitäten vortäuschen könnten, die real nicht existierten. Für die hier untersuchten Abfalleluate kann diese Aussage jedoch nicht bestätigt werden. Reine IP-Lösungen und unkontaminierte Bodensuspensionen haben keine negativen Auswirkungen auf die Leuchtbakterien, und die getesteten Schadstofflösungen können im allgemeinen aufgrund der  $\text{EC}_{50}$ -Werte in den Leuchtbakterientests differenziert beurteilt werden. Laut KANNE (1989) können in der Umwelt nur solche Stoffe gefährlich werden, die sich auch nach erfolgter Adaption noch hemmend auf eine Bakterienpopulation auswirken. Dabei bedenkt der Autor nicht, daß, wenn die Testorganismen nach der Adaption nicht mehr gehemmt werden, möglicherweise eine Resistenzbildung gegenüber den Schadstoffen stattgefunden hat, die weitreichende Folgen haben kann. Eine Folge wäre z. B. die Verschiebung der Bakterienpopulationen in einem Ökosystem, bei der diejenigen Stämme, die zur Resistenzbildung befähigt sind, an Individuen zunehmen, während empfindlichere Stämme reduziert oder eliminiert werden. Eine solche Verschiebung wiederum kann umfangreiche Auswirkungen auf das Ökosystem haben, wenn z. B. die eliminierten Stämme Nahrungsgrundlage in einer Nahrungskette oder in einem Nahrungsnetz waren (s. dazu Abb. 4.2).

Für die Untersuchung von Boden oder Sedimenten steht neben dem hier durchgeführten Leuchtbakterientest ein Solid Phase Test zur Verfügung, bei dem die Leuchtbakterien direkt mit dem Boden versetzt werden. Nach anschließender Inkubation werden die Leuchtbakterien aus dem Boden extrahiert und die von ihnen ausgehende Lichtemission in Pufferlösung

gemessen (BITTON und KOOPMAN 1992). Ein Problem bei diesem Verfahren ist die nicht unbedingt konstante und unter Umständen nicht reproduzierbare Effizienz der Extraktion der Leuchtbakterien aus dem Boden. Besonders bei verschiedenen Böden oder Sedimenten kann es zu großen Unterschieden kommen (DAY et al. 1995). Es wurde deshalb auf die mit höheren Kosten verbundene Anschaffung der zusätzlichen Materialien für den Solid Phase Test und die Durchführung dieses Tests verzichtet.

Insgesamt betrachtet ist der MICROTOX™-Test für UTD-relevante Abfalleluate sehr gut geeignet. Nicht geeignet dagegen ist er, ebenso wie der MUTATOX™-Test, für Proben mit sehr hohem oder sehr niedrigem pH-Wert sowie für stark getrübbte oder gefärbte Proben (s. Kap. 2.1.3 und 3.4.1.3).

Die in Voruntersuchungen festgestellte höhere Toxizität der neutralisierten Eluate 153-IP9 und 153-GW zeigt, daß eine solche Veränderung der Testlösung das Ergebnis verfälschen kann. Die höhere Toxizität der neutralisierten Eluate kann mit einer Veränderung der Speziation der Inhaltsstoffe zusammenhängen, die bewirkt, daß diese Stoffe für die Leuchtbakterien leichter verfügbar sind.

#### 4.3.2 MUTATOX™-Tests

Für den MUTATOX™-Test gelten prinzipiell die gleichen Auswahlkriterien wie für den MICROTOX™-Test, da der gleiche Testorganismus verwendet wird. Auch hier ist das Testzubehör im Handel erhältlich. Weil es sich um ein neueres Testverfahren handelt, ist der Umfang der zur Verfügung stehenden Literatur jedoch geringer (z. B. ULITZUR und BARAK; 1988; KWAN et al. 1990; ARFSTEN et al. 1994). Im Vergleich zu anderen Gentoxizitätstests, wie z. B. dem Ames-Test (MARON und AMES 1983), muß der MUTATOX-Test nicht unter sterilen Bedingungen durchgeführt werden. Die eingesetzten Mikroorganismen sind im Gegensatz zu den im Ames-Test eingesetzten Salmonellen (*Salmonella typhimurium*) nicht pathogen und können problemlos entsorgt werden.

Mit dem MUTATOX™-Test sind differenzierte Aussagen über die Leuchtbakterien-Gentoxizität der Abfalleluate möglich. Besonders deutlich wird diese Differenzierbarkeit z. B. bei den Eluaten von CA 153. Die unterschiedlichen Elutionsmittel führen hier zu unterschiedlichen Effekten, die sich dahingehend äußern, daß die Salzlaugeneluate gentoxisch sind, das Grundwassereluat dagegen nicht.

Gentoxisch aktiv in diesem Test sind DNA-interkalierende Agenzien, direkte Mutagene, die die Basensequenz der DNA verändern oder Leserasterstörungen bewirken, sowie DNA-schädigende Agenzien, die Veränderungen in der Chromosomenform, -position, -struktur oder -zahl hervorrufen oder die DNA-Synthese inhibieren.

Die Empfindlichkeit der mutierten Leuchtbakterien ist aufgrund der längeren Inkubationszeit und des Zusatzes von Nährmedium etwas geringer als die der Leuchtbakterien im MICROTOX™-Test (HAUSER et al. 1998). Außerdem besteht zumindest die Möglichkeit, daß Bestandteile des Nährmediums oder des S9-Mixes Inhaltsstoffe der Eluate sorbieren oder verändern und so die Eluatoxizität beeinflussen. Bei Verwendung des S9 Mixes ist die Metabolisierung von Inhaltsstoffen ohnehin beabsichtigt und ermöglicht die Beurteilung der Gentoxizität von Proben nach Aufnahme von Organismen und damit verbundener Verstoffwechselung.

Auch die durch die Bodenbehandlung hervorgerufenen Effekte sind mit dem MUTATOX™-Test detektier- und differenzierbar. Mögliche Effekte sind die Aufhebung der Gentoxizität oder die Verschiebung des Konzentrationsbereichs insofern, als daß eine höhere Konzentration mit Boden behandelten Eluats notwendig ist, um einen mutagenen Effekt hervorzurufen. Für die Eignung dieses Tests zur Beurteilung UTD-relevanter Abfalleluate gilt im Prinzip das gleiche wie für den MICROTOX™-Test (s. Kap. 4.3.1). Auch hier ist die Halophilie der mutierten Leuchtbakterien von Vorteil für die Untersuchung der salinaren Abfalleluate.

#### 4.3.3 Hemmtest nach OFFHAUS

Der Test ist einfach in der Durchführung und automatisierbar bei Verwendung eines Sapro-maten. Abwasser-Mikroorganismen können leicht aus einem Klärwerk beschafft und über max. 6 Monate im Kühlschrank gelagert werden. Speziell für UTD-relevante Abfalleluate sind Abwasser-Mikroorganismen aufgrund ihrer relativen pH-Toleranz (s. Kap. 2.1.3) und Salzunempfindlichkeit geeignet. Diese Salzunempfindlichkeit hängt damit zusammen, daß Abwässer in der Regel nicht nur mit organischen Fremdstoffen, sondern auch mit einer beträchtlichen Salzfracht (Sulfate, Nitrate, Chloride) verunreinigt sind. Die osmotischen Bedingungen in Abwässern können daher denen in marinen Ökosystemen ähnlich sein (SCHLEGEL 1992). Lediglich bei sehr hohen Salzkonzentrationen (s. Kap. 3.3: 100 mL IP9 bzw. IP21/L) kommt es zur Hemmung des Sauerstoffverbrauchs auch durch die schadstofffreien IP-Laugen.

Die Ökosystemrelevanz des Hemmtests nach OFFHAUS ist in jedem Fall höher anzusiedeln als diejenige des MICROTOX™-Tests. Ein möglicher natürlicher Kontakt zwischen Abwasser-Mikroorganismen und Abfalleluaten ist auf zwei Wegen denkbar. Bei Eintritt der Abfalleluate in die Biosphäre könnte es einerseits zu einem Direkteintrag in (eutrophierte) Oberflächengewässer kommen, andererseits kann das Eluat auch indirekt über die Klärananlage eingetragen werden. Werden die Abwasser-Mikroorganismen als Basis einer Destruenten-Saprophagen-Nahrungskette durch die Abfalleluate nachhaltig geschädigt, führt dieses zu einer Reduzierung des Abbaus organischer Stoffe in Abwässern oder eutrophierten Gewäs-

sen und zu einem Ausfall dieses Gliedes in der Nahrungskette. Das kann weitreichende Folgen haben.

Der Hemmtest nach OFFHAUS wird in der Regel für Gewässerproben eingesetzt, so z. B. bei Untersuchungen im Klärwerk und bei der Beurteilung von Badeseen. Der Test hat sich aber auch in den hier durchgeführten Untersuchungen bewährt. Die Überlegungen, die zur Auswahl dieses Tests geführt haben, haben sich in der Anwendung ebenfalls bestätigt.

Die Empfindlichkeit der Abwasser-Mikroorganismen gegenüber den Schadstoffen in den Eluaten ist geringer als die der Leuchtbakterien. Es können aber deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Eluaten und der Auswirkung der Elutionsmittel festgestellt werden. Auch lassen sich Sorptionsphänomene deutlich machen (s. Kap. 3.4.3 und 4.5).

Für die geringere Empfindlichkeit der Abwasser-Mikroorganismen sind vier Aspekte verantwortlich.

Einerseits haben die Abwasser-Mikroorganismen aufgrund ihrer Lebensbedingungen als Abwasserbewohner *per se* eine höhere Toleranz gegenüber Schwermetallen entwickelt. Die Empfindlichkeit eines Organismus hängt immer auch von der Hintergrundkonzentration eventuell vorhandener Schadstoffe ab (VAN BEELEN und DOELMAN 1997). So fanden PICKUP et al. (1997) nickelresistente Stämme von *Enterobacter cloaca* im direkten Abfluß einer Kläranlage. Weiter unterhalb des Abflusses konnte diese Resistenz nicht mehr festgestellt werden. Abwasser-Mikroorganismen existieren in einem Milieu, das großen Schwankungen in der Zusammensetzung unterliegen kann, so daß sie ohnehin anpassungsfähig sein müssen. Dadurch sind diese Organismen aber auch tolerant gegenüber erhöhten Salzkonzentrationen und können in einem relativ breiten pH-Bereich (ca. 4,5 – 10) leben. Das wiederum macht sie für die Untersuchung der vorliegenden Abfalleluate geeignet.

Andererseits haben sie, bedingt durch die längere Inkubationszeit im Vergleich zum MICROTOX<sup>TM</sup>-Test (120 h statt 30 min) eher die Möglichkeit, sich an die Schadstoffe zu adaptieren und Resistenzen zu entwickeln, zudem im Hemmtest nach OFFHAUS auch Nährstoffe und Sauerstoff zugeführt werden, was im MICROTOX<sup>TM</sup>-Test nicht der Fall ist. Bei Betrachtung der MUTATOX<sup>TM</sup>-Ergebnisse in Bezug auf die optische Dichte und die mutagenen, noch nicht leuchtbakterientoxischen Konzentrationen wird dieses untermauert (HAUSER et al. 1998). Die Leuchtbakterien werden hier, ebenso wie die Abwasser-Mikroorganismen, über längere Zeit inkubiert (24 h) und mit Nährstoffen versorgt. Dadurch sind die Auswirkungen toxischer Inhaltsstoffe in den Testlösungen auf diese Testorganismen insgesamt geringer.

Hinzu kommt drittens, daß es sich im MICROTOX<sup>TM</sup>- bzw. MUTATOX<sup>TM</sup>-Test nur um eine Organismenart handelt, während beim Hemmtest nach OFFHAUS gleich eine ganze Reihe verschiedener Mikroorganismen-Arten eingesetzt wird, die unterschiedlich auf verschiedene Schadstoffe reagieren können, diese Reaktionen aber aufgrund der Mischung möglicherweise in der Summe ausgleichen können.

Ein vierter Punkt ergibt sich aus den Kriterien, die die Bestimmung des Endpunktes in den beiden Tests betreffen. Während im Leuchtbakterientest die Verringerung der Lichtemission der Leuchtbakterien zur Ermittlung von EC-Werten, also Konzentrationen, die einen Effekt hervorrufen, herangezogen wird, ist es im Hemmtest nach OFFHAUS der Sauerstoffverbrauch der Bakterien. Im Falle des Leuchtbakterientests reicht also eine zur Hemmung der Lichtemission führende Stoffwechselstörung aus, um einen Effekt anzuzeigen, während die Atmung dieser Organismen möglicherweise noch nicht gehemmt wird. Im Hemmtest nach OFFHAUS muß die Wirkung der Testlösung dagegen schon so stark sein, daß die Atmung der Bakterien gestört oder sogar unterbunden wird.

Berücksichtigt werden muß bei Verwendung des Sapromaten, daß gerätebedingt eine Anzeige von wenigen mL O<sub>2</sub>/L auftreten kann, ohne daß ein tatsächlicher Sauerstoffverbrauch stattgefunden hat. Geringfügige Unterschiede im Sauerstoffverbrauch einer Doppelbestimmung bzw. im Vergleich zu anderen Proben dürfen nicht überbewertet werden, weil (a) die Abwasser-Mikroorganismen einer natürlichen Dynamik unterliegen, und (b) Druckschwankungen dafür verantwortlich sein können.

Der Hemmtest nach OFFHAUS ist im Prinzip für alle Eluate geeignet, nur bei den Eluaten von CA 204 gibt es in höheren Konzentrationen (ab 10 mL/L) wegen des niedrigen pH-Wertes Probleme. Daß nur das IP9-Eluat von CA 204 getestet wurde, ist ein eher logistisches Problem: Als die Eluate 204-IP21 und 204-GW geliefert wurden, wurde gerade eine längerandauernde Testserie mit 204-IP9 durchgeführt. Als diese beendet war, waren bereits zahlreiche Eluate anderer Abfälle vorhanden, so daß zunächst eine Auswahl dieser Eluate getestet wurde. Durch die lange Standzeit kam es dann jedoch zu derart starken Bodensätzen, daß von einer Untersuchung der Abfalleluate 204-IP21 und 204-GW abgesehen werden mußte.

#### 4.3.4 Regenwurmtests

Die Regenwurmart *Eisenia fetida* ist ein in der Ökotoxikologie seit langem etablierter Testorganismus (z. B. ROBERTS und DOROUGH 1984; NEUHAUSER und CALLAHAN 1990; GREIG-SMITH et al. 1992; KULA 1994; LOKKE und VAN GESTEL 1998). Die Art kann leicht und ohne sehr großen Aufwand im Labor gezüchtet werden (GRAFF 1953). Der Test selbst ist mit wenigen einfachen Mitteln durchführbar (ISO 1993).

Die Arten *Lumbricus terrestris* und *L. rubellus* werden ausgewählt, weil sie in Deutschland heimisch und zahlreich sind und von einem ‚worst case‘ Szenario direkt betroffen sein könnten. Im Gegensatz zu *E. fetida*, der in Norddeutschland im Freiland nicht vorkommt, leben diese Arten im Boden. Auch hier liegen zahlreiche ökotoxikologische Studien vor (z. B. STRINGER und WRIGHT 1973; CATHEY 1982). HEIMBACH (1985) und KULA (1994)



fürten vergleichende Untersuchungen an *E. fetida* und *L. terrestris* zur Regenwurmtoxizität von Chemikalien durch.

Bei ökotoxikologischen Untersuchungen mit Regenwürmern hat deren permeable Hautstruktur eine große Relevanz, da diese Organismen ihren Wasserhaushalt überwiegend über die Körperoberfläche regulieren und auf diesem Wege sehr leicht Schadstoffe aufnehmen können.

Eine differenzierte Reaktion der Regenwürmer auf die schadstofffreie und dotierte Salzlauge läßt sich nicht feststellen. Die langsam stärker werdende Gewichtsabnahme mit zunehmender IP21-dot.-Konzentration ist so gering, daß sie in keinem Verhältnis zu der in anderen Tests festgestellten Toxizität steht. Eine klare Trennung der durch die reine und die dotierte Salzlösung hervorgerufenen Effekte ist nicht möglich.

Dieses hängt einerseits mit der hohen Salzempfindlichkeit der Regenwürmer zusammen, andererseits mit der hohen Schadstoffsorption an die Bodenmatrix. Eine hohe Schadstoffsorption ergibt sich bereits aus den Vergleichen von unbehandelten und bodenbehandelten Eluaten im Leuchtbakterientest, MUTATOX<sup>TM</sup>-Test und Hemmtest nach OFFHAUS. Hier können durch den Boden schon deutliche Effekte festgestellt werden, obwohl die eingesetzte Bodenmenge in diesen Versuchen wesentlich geringer ist als im Collembolen- oder Regenwurmtest (s. dazu auch Kap. 4.5). Um die Sorptionskapazität des Bodens zu überschreiten, müßte eine höhere Menge Schadstofflösung eingesetzt werden. Das ist bei der hohen Salzempfindlichkeit der Organismen aber nicht möglich, da eine Konzentration von 50 mL IP-Lauge/L bereits letal (LC<sub>100</sub>) ist.

Im MICROTOX<sup>TM</sup>-Test, in dem Boden und Schadstofflösung in einem Verhältnis von 1:10 gemischt wurden, wird der EC<sub>50</sub>-Wert von IP21-dot. von 0,53 mL/L vor der Bodenbehandlung auf 7,18 mL/L nach der Bodenbehandlung erhöht. Im Regenwurmtest dagegen liegt das Verhältnis von Boden zu Testlösung bei 1:0,22 bzw. 45:10. Die Reduzierung der Toxizität muß daher in den Regenwurmtests rein rechnerisch noch deutlich höher sein. Werden, rein theoretisch, die Verhältnisse im MICROTOX<sup>TM</sup>-Test auf die Verhältnisse im Regenwurmtest umgerechnet, müßte sich der EC<sub>50</sub>-Wert durch den Bodeneinfluß sogar auf 323 mL/L erhöhen. Es müßten also 323 mL/L Schadstofflösung eingesetzt werden, um einen EC<sub>50</sub>-Wert zu erhalten, wenn Sorption und Toxizitätszunahme linear verlaufen würden und die Regenwürmer die gleiche Empfindlichkeit wie die Leuchtbakterien hätten. Bei diesen Berechnungen handelt es sich um eine stark vereinfachte Betrachtung, die nur zur Veranschaulichung der Probleme, die bei Ökotoxizitätstests im Boden durch die Sorption grundsätzlich bestehen, dienen sollen. Adsorptionsisothermen verlaufen grundsätzlich nicht linear (BRDICKA 1988), und auch bei der Zunahme der Toxizität mit steigender Konzentration kann von Linearität nicht ausgegangen werden. Dennoch können anhand dieser theoretischen Betrachtung Größenordnungen aufgezeigt werden.

Eine mögliche Eignung der Regenwürmer für Tests mit Grundwassereluaten wurde nicht geprüft. Einerseits sollten die ausgewählten Tests für die Eluate mit allen drei Elutionsmitteln geeignet sein, da es nicht sinnvoll erscheint, zwei verschiedene Tests für IP-Eluate auf der einen Seite und Grundwassereluate auf der anderen Seite einzusetzen. Andererseits lagen zu dem Zeitpunkt, zu dem es sich im Rahmen des Projekts ergab, daß Regenwürmer für UTD relevante Abfalleluate nicht geeignet sind, noch keine Grundwassereluate von der GRS vor.

#### 4.3.5 Collembolentests

Collembolen gelten als gut untersuchte Gruppe von Bodentieren (z. B. HOPKIN 1997). Verschiedene Arten lassen sich im Labor gut züchten, vor allem solche, die eine kurze Entwicklungsdauer, eine hohe Reproduktionsrate und eine parthenogenetische Fortpflanzung aufweisen. Die Arten *Folsomia candida* und *Sinella coeca* verfügen über diese Eigenschaften und werden daher als Versuchstiere eingesetzt. *Folsomia candida* wird schon seit langem als Testorganismus für Pestizide (THOMPSON und GORE 1972; USHER und STONEMAN 1977) und Schwermetalle (CROMMENTUIJN et al. 1993; SMIT und VAN GESTEL 1995, 1996; VAN GESTEL und VAN DIEPEN 1997; VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997) genutzt, während *Sinella coeca* bisher wenig Anwendung fand. Eine aktuelle Literaturübersicht zu Collembolentests findet sich bei HOPKIN (1997). Der Test ist mit wenigen, einfachen Mitteln durchführbar (ISO 1994). Die Arten *Folsomia candida* und *Sinella coeca* sind in Deutschland heimisch, so daß auch hier, wie bei *L. terrestris* und *L. rubellus*, ein im Projektgebiet eintretendes ‚worst case‘ Ereignis Auswirkungen auf diese Bodentiere haben könnte. Ebenso wie in den Regenwurmtests läßt sich eine deutlich differenzierte Reaktion der Collembolen auf IP-Laugen und -Eluate nicht feststellen. Gibt es Effekte, stehen sie wiederum in keinem Verhältnis zur in anderen Tests festgestellten Toxizität, d. h. wenn Effekte auftreten, dann erst ab einer relativ hohen Konzentration. Verantwortlich dafür sind auch hier die hohe Salzempfindlichkeit der Organismen und die Sorption der Schadstoffe an die Bodenmatrix. Die Empfindlichkeit von *F. candida* hängt stark vom Wassergehalt des Testsubstrats ab. Unterschiedliche Wassergehalte des LUFA 2.2 Bodens beeinflussen die Reproduktion, den offensichtlich empfindlichsten Parameter bei Collembolen deutlich (SMIT und VAN GESTEL 1995, SCOTT-FORDSMAND et al. 1997, VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997). Dieses bestätigen auch Untersuchungen von VAN GESTEL und VAN DIEPEN (1997), die in ‚artificial soil‘ bei 64% und 76% der WHK ebenfalls eine deutlich erhöhte Reproduktion der Collembolen (*F. candida*) feststellten. In der Testanweisung für den Collembolentest ist die Einstellung der WHK des Testbodens mit einer Spannweite von 40 – 60% angegeben. Die IP9-Kontrollen für 151-IP9 und 204-IP9 weisen einen leicht unterschiedlichen Wassergehalt

auf (50 bzw. 45% der WHK des LUFA 2.2 Bodens). Das führt zu deutlichen Unterschieden in den Reproduktionszahlen. Offensichtlich sind die Reproduktionsbedingungen für die Collembolen mit ansteigenden Salzkonzentrationen bei einem niedrigeren Wassergehalt (45%) schlechter, als bei höherem Wassergehalt (50%), bei dem es sogar mit ansteigender Salzkonzentration noch zu einer Stimulation der Reproduktionsrate kommt. Diese Ergebnisse machen deutlich, wie unterschiedlich die Effekte bei einer derartigen Spannweite des Wassergehaltes sein können, so daß Tests mit verschiedenen Wassergehalten und Testsubstraten mit unterschiedlicher WHK unter Umständen gar nicht miteinander verglichen werden können. Besitzt der Testboden z. B. eine hohe Sorptionskapazität, bedeutet das auch eine hohe Sorption von Wasser. Dadurch kommt es zu einer geringeren Wasserverfügbarkeit – ein hoher Streßfaktor für die Collembolenart *F. candida*, die fast wassergesättigte Luft zum Überleben braucht (HOUX et al. 1996). Durch diese suboptimalen Bedingungen wird die Fitness von *F. candida* beeinträchtigt. Beträchtliche Auswirkungen auf die Testergebnisse können die Folge sein.

Die Problematik, die bei Übertragung von Ergebnissen auf Freilandbedingungen daraus entstehen kann, wird unter Kap. 4.6 diskutiert.

Collembolen sind in der Lage, Schwermetalle im Darmepithel zu speichern (HUMBERT 1977). Häuten sich diese Tiere, wird auch das Darmepithel abgestoßen und erneuert. Auf diese Weise können Collembolen große Mengen aufgenommener Schwermetalle wieder ausscheiden (JOOSSE und BUKER 1979; JOOSSE und VERHOEF 1983; VAN STRAALEN et al. 1985; NOTTROT et al. 1987). Dieses wird auch an den Versuchen mit den drei verschiedenen Co-Salzen deutlich (s. Kap. 3.7). Im Testboden wachsen die eingesetzten Tiere in der 28-tägigen Versuchsperiode kaum, es kommt zu keiner Fortpflanzung. Werden die Tiere jedoch in unkontaminierten Boden umgesetzt, wachsen sie auf ihre normale Größe an und pflanzen sich in normalem Umfang fort.

Die für diesen Test vorliegende, relativ hohe Ökosystemrelevanz und die Bedeutung der Collembolen für das Bodenökosystem, zeigt sich an folgendem Beispiel. Wenn die Fraßaktivität der Collembolen abnimmt, auch langfristig bedingt durch reduzierte Reproduktion, können die Funktionen des Bodenökosystems erheblich gestört werden. So wird z. B. die Stoffwechselaktivität von Pilzen durch Collembolenfraß erhöht (HANLON und ANDERSON 1979). Dieses wiederum erhöht die Streuabbaurate, und dem Boden werden pflanzenverfügbare Nährstoffe in Form der entstehenden Abbauprodukte zugeführt (s. dazu auch MEISSNER 1997).

Trotz der relativ hohen Ökosystemrelevanz ist der Collembolentest nicht für UTD relevante Abfalleluate geeignet, wohl aber für die Untersuchung von Salzeffekten (s. 4.3.6).

*Sinella coeca* ist, obwohl diese Art gegenüber *Folsomia candida* vermutlich weniger salzempfindlich ist, als Testorganismus nicht geeignet, weil die Synchronisation dieser Tiere auf-

grund niedriger Reproduktionsraten problematisch ist, und starke Schwankungen in der Anzahl der Juvenilen keine sinnvolle Auswertung ermöglichen. Darüberhinaus gilt das bereits für *F. candida* erwähnte.

#### 4.3.6 Versuche mit *Folsomia candida* und verschiedenen Salzen

Die Untersuchungen mit *F. candida* und verschiedenen Salzen demonstrieren, daß neben dem zu testenden Schwermetall auch die Gegenionen große Auswirkungen auf die betroffenen Organismen haben können. Die Collembolen-Toxizität der Chloride ist bei den getesteten Salzen außer bei Co, Cu und Zn deutlich höher als die der entsprechenden Sulfate. Wird von einem Schwermetall nur das Chlorid getestet, kann dies zu einer Überschätzung der Toxizität des Schwermetalls führen. Eine einfache Berechnung verdeutlicht dieses (SCHRADER et al. 1998): In den hier durchgeführten Versuchen reduzierte NaCl deutlich die Reproduktionsrate bzw. den Erfolg der Eientwicklung. Der Chlorid-Gehalt in den Versuchen betrug 1,54 g/kg Bodentrockengewicht bei einem Wassergehalt von 50% der WHK des LUFA 2.2 Bodens. Soll z. B. 1 g Cu-Ionen auf Collembolen-Toxizität untersucht werden, müßten 2,12 g  $\text{CuCl}_2$ /kg Bodentrockengewicht eingewogen werden. Das entspräche 1,12 g Chlorid/kg Bodentrockengewicht. Für 1 g Fe-Ionen wären es sogar 2,905 g  $\text{FeCl}_3$ /kg Bodentrockengewicht und damit 1,905 g Chlorid/kg Bodentrockengewicht. Während Cu auch in Form von  $\text{CuSO}_4$  ebenso hohe toxische Effekte auf *F. candida* hat wie  $\text{CuCl}_2$ , ist  $\text{FeSO}_4$  wesentlich weniger toxisch als  $\text{FeCl}_3$  (Abb. 3.19 in Kap. 3.7). Ein Versuch, entsprechend der oben geschilderten Berechnungen mit  $\text{FeCl}_3$  durchgeführt, würde jedoch, ohne Beachtung des Chlorid-Effektes, den Eindruck erwecken, 1 g Fe-Ionen könne die Reproduktion der Collembolen vollständig hemmen. Tatsächlich kann so der Eiseneffekt aber gar nicht beurteilt werden. Daß der Effekt (hauptsächlich) von der Konzentration des Anions abhängt, demonstrieren die Versuche mit den zusammen eingewogenen Chloriden von Na, Ca und Mg. Das einzelne Kation liegt hier in relativ niedriger Konzentration vor, der Chlorid-Gehalt ist aber so hoch, wie im (toxisch wirkenden) NaCl-Ansatz. Die toxische Wirkung ist bei dieser ‚Salzkombination‘ ebenso hoch wie im NaCl-Ansatz. Umgekehrt ruft z. B. eine hohe Mg-Konzentration (Kombination von  $\text{MgCl}_2$  und  $\text{MgSO}_4$ ) keine sichtbaren negativen Effekte hervor. Daß ab bestimmten (hohen) Konzentrationen aber auch negative Effekte durch Sulfate entstehen können, zeigt das Ergebnis des doppelten  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Ansatzes.

Auch VAN GESTEL und HENSBERGEN (1997) weisen auf die Problematik von Chlorideffekten hin. Daß diesen Effekten bis jetzt jedoch kaum Bedeutung beigemessen wurde, zeigen folgende Literaturbeispiele.

SCOTT-FORDMAND et al. (1997) untersuchten subletale Effekte von Cu auf *Folsomia fimetaria*. Sie verwendeten LUFA 2.2 Boden und setzten Cu in Form von  $\text{CuCl}_2$  ein. Die Autoren bezogen die ermittelten Toxizitätsdaten allein auf die eingesetzten Cu-Konzentrationen ohne Rücksicht auf die damit einhergehenden Chlorid-Konzentrationen.

HAIGHT et al. (1982) verglichen  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CdCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CrO}_4$  und  $\text{NiSO}_4$  in ihrer toxischen Wirkung auf *Panagrellus silusiae* (Nematoda), ohne darauf einzugehen, daß die verschiedenen Gegenionen zu unterschiedlichen Effekten und damit zu falschen Annahmen bei einem direkten Vergleich der Schwermetalle führen können.

Für die Untersuchung der Toxizität von Schwermetallen sollten aufgrund der hier geschilderten Problematik möglichst andere Salze als Chloride und Nitrate getestet, oder zumindest Tests mit anderen Salzen als Referenz herangezogen werden (SCHRADER et al. 1998).

#### 4.3.7 Kontakt-Papier-Test mit Collembolen

Der Kontakt-Papier-Test mit Collembolen ist eindeutig für UTD relevante Abfalleluatate nicht geeignet. Da in dem Versuch keine Nahrungsaufnahme stattfindet (und auch nicht vorgesehen ist), kommen die Collembolen vermutlich mit den Schadstofflösungen oral überhaupt nicht in Kontakt. Durch die nahezu nicht permeable Körperhülle können die Schadstoffe kaum eindringen, und Kontakte über Wasserfilm und Ventraltubus finden offensichtlich nicht statt oder haben keine meßbare Bedeutung.

Zudem weist der Test keine Ökosystemrelevanz auf, da die Versuchsbedingungen extrem artifiziell sind und natürlichen Gegebenheiten nicht entsprechen.

#### 4.3.8 Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität und Diskussion mikrobiologischer Boden-Tests im allgemeinen

Dehydrogenasen sind an die Integrität der lebenden Zelle gebunden und besitzen im extrazellulären Zustand nur eine kurze Lebensdauer (TATE 1995). Sie spiegeln daher die mikrobielle Aktivität im Boden wider.

Die Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität (DHA) wird direkt mit dem kontaminierten Boden durchgeführt. Damit kann die Direktwirkung von Schadstoffen auf die natürlichen Mikroorganismen des Bodens ermittelt werden. Eine Schädigung der Bodenmikroflora kann sich auf das gesamte Ökosystem Boden auswirken, da die Mikroorganismen zu den unteren Gliedern der Nahrungskette gehören. Werden sensiblere durch weniger sensible Arten verdrängt, kann es durch den Wegfall dieser sensibleren Mikroorganismen unter anderem zu Schädigungen der Mycorrhiza oder zum Wegfall von Nahrungskomponenten für z. B. Collembolen kommen. Dabei kann die bisher angenommene Auffassung, daß toxische Effekte,

die in der gleichen Größenordnung auftreten, wie die natürlichen Schwankungen, reversibel seien und keine Auswirkungen auf natürliche Ökosysteme hätten (z. B. DOMSCH et al. 1983), nicht mehr vertreten werden (VAN STRAALEN und VAN GESTEL 1994). Der Test ist für Pflanzenschutzmittel gut etabliert (z. B. MALKOMES und WÖHLER 1983) und im Labor einfach und ohne großen Kostenaufwand durchzuführen.

Aus den Ergebnissen lassen sich jedoch keine Toxizitäten ableiten. Trotz hoher Toxizität von 204-IP9 und Q-Lauge Beienrode im Hemmtest nach OFFHAUS liegt die DHA des mit 204-IP9 kontaminierten Bodens noch oberhalb derjenigen der unkontaminierten Kontrolle. Ähnliches gilt für die Q-Lauge Beienrode.

VAN BEELEN und DOELMAN (1997) vertreten die Ansicht, daß viele enzymatische Tests sehr unempfindlich reagieren, und auch die Bestimmung der DHA ein unempfindliches Testverfahren ist. Dieses kann anhand der hier vorliegenden Ergebnisse bestätigt werden.

BROOKES (1995) äußert, daß für die Untersuchung von Schwermetallbelastungen in Böden kein einzelner mikrobieller Parameter universell anzuwenden ist. Er empfiehlt, daß mehrere mikrobielle Testverfahren angewendet werden und die gewählten Tests möglichst unabhängig voneinander sein sollten.

Liegt eine Kontamination mit Schwermetallen vor, besteht die Gefahr einer Fehlinterpretation der Ergebnisse. So kann Cu im Boden eine niedrige DHA vortäuschen, weil es auf abiotischem Wege die Bildung von TPF aus TTC verhindert (CHANDER und BROOKES 1991).

Sulfat, Phosphat, Chlorid, und Mangandioxid steigern die DHA-Werte scheinbar, weil sie, wie die Boden-Mikroorganismen, ebenfalls TTC reduzieren (BREMNER und TABATABAI 1973). Anionische Komponenten, wie z. B. Eisen(II)-Verbindungen oder Sulfide, sind in der Lage, TTC zu reduzieren. Somit können höhere DHA-Konzentrationen vorgetäuscht werden (SCHINNER et al. 1993) und erklären möglicherweise die Ergebnisse für 204-IP9 und Q-Lauge Beienrode.

Mikrobielle Bodenatmung kann unter Freilandbedingungen starken Schwankungen unterworfen (COOK und GREAVES, 1987), unter kontrollierten Laborbedingungen jedoch gut und genau bestimmbar sein (JENKINSON und POWLSON 1976). Dieses gilt zumindest bei der Untersuchung von Pestiziden. Die unter 2.2.9 durchgeführte Bestimmung der Bodenatmung zeigt jedoch keine toxischen Effekte der getesteten Eluate und keine Korrelation mit der im Vergleich dazu untersuchten DHA auf. Das mag einerseits daran liegen, daß die Dehydrogenasen zwar den Umfang der oxidativen Aktivität der Bodenmikroflora widerspiegeln, diese jedoch nicht mit der Gesamtkeimzahl oder der Respiration korreliert sein muß (STEVENSON 1959). Andererseits bleibt die mikrobielle Atmung von Schwermetallen unberührt, wenn sie in Konzentrationen im Bereich der von der EU festgelegten Grenzwerte getestet werden (BROOKES und MC GRATH 1984). Erst bei Einsatz sehr hoher Konzentrationen kommt es zu Effekten. Z. B. nimmt laut TYLER (1981) die mikrobielle Atmung erst bei Konzentrationen

von mehr als 1000 mg Cu oder Zn/kg ab. Unter anderem aufgrund der hohen Salzgehalte in den Eluaten wäre der Einsatz einer derart hohen Konzentration nicht sinnvoll, insbesondere deswegen, weil andere o. a. Tests bereits bei viel geringeren Konzentrationen Effekte zeigen. Auch die Untersuchungen des Bodens nach der Behandlung mit 204-IP9 (Kap. 3.4.3.1) lassen keine Aussage über die Toxizität des getesteten Eluats zu, da es bei der höchsten Konzentration von 204-IP9 sogar zu einer Stimulation des Sauerstoffverbrauchs im Hemmtest nach OFFHAUS kommt. Diese ist aber mit großer Wahrscheinlichkeit anorganischen Ursprungs, bedingt durch den hohen Eisengehalt aus dem 204-IP9-Eluat.

Langzeittests mit Mikroorganismen sind im allgemeinen weniger empfindlich als Kurzzeittests, da bei Langzeittests die Toxizität durch die Aktivität weniger resistenter Mikroorganismenarten, die aufgrund mangelnder Konkurrenz in hohen Individuenzahlen auftreten, verdeckt werden kann, wenn z. B. die Bodenatmung als Summenparameter verwendet wird (VAN BEELEN und DOELMAN 1997). Dieses steht im Gegensatz zu der Regel, daß zootoxikologische Kurzzeittests gewöhnlich weniger empfindlich sind als chronische Tests, aufgrund der relativ langsamen Aufnahme der Schadstoffe durch die Tiere. Die Aufnahme durch Mikroorganismen ist weitaus schneller als durch Tiere oder Pflanzen (HENDRIKS 1995).

#### 4.3.9 Tests mit *Artemia salina* und *Isotoma viridis*

*Artemia salina* ist, wie *Vibrio fischeri*, ein mariner Organismus, befindet sich aber aufgrund der Zugehörigkeit zu den Crustaceen auf einer wesentlich höheren Organisationsstufe als das Leuchtbakterium. Wie bei den Leuchtbakterien wirken Salzlaugen in den verwendeten Konzentrationen nicht limitierend auf die Artemien, so daß reine Salzeffekte ausgeklammert werden können. *Artemia salina* ist kein etablierter Testorganismus, ist aber unter geeigneten Bedingungen gut zu züchten. In den hier durchgeführten Tests waren die Bedingungen jedoch nicht geeignet, da für einen sinnvollen Testaufbau ein wesentlich größeres Kontingent an Belüftungsmöglichkeiten notwendig gewesen wäre (s. Kap. 3.10). Aufgrund der räumlichen Gegebenheiten in der Klimakammer war dieses nicht realisierbar.

Zusätzlich zu den unter Kap. 4.3.5 aufgeführten Kriterien ist *Isotoma viridis* eine Collembolenart, die auch auf stärker salzhaltigen Böden (WITTEVEEN et al. 1987) existieren kann. Eine höhere Salztoleranz im Vergleich zu *Folsomia candida* unter den entsprechenden Versuchsbedingungen kann jedoch nicht festgestellt werden.

Wegen schlechter Zuchtmöglichkeiten ist diese Art sogar weniger geeignet als *F. candida* und *Sinella coeca*.

Eine weitere Collembolenart, *Anurida maritima* (Arthropoda, Collembola), die im marinen Littoral lebt und daher extrem salztolerant ist, konnte leider nicht getestet werden. Zuchtmöglichkeiten für diese Art bestanden nicht, da sie als Futter frische Polychaeten benötigt

(WITTEVEEN et al. 1987), die im Handel nicht zu beziehen sind, und deren Zucht im Labor sehr aufwendig und daher nicht sinnvoll ist.

#### **4.4 Interpretation der Ergebnisse aus den Ökotoxizitätstests unter Betrachtung der chemischen Analyse der Abfalleluate**

Tab. 4.1, 4.2 und 4.3 zeigen die Ergebnisse der chemischen Analytik (ICP-AES, Anionenchromatographie, Analytik: Marc Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik der TU Braunschweig, MÜLLER 1996, BRASSER et al. 1998). Nachfolgend werden die einzelnen Eluate im Hinblick auf ihre (Öko-)Toxizität und die analytischen Ergebnisse betrachtet (s. dazu auch Tab. 3.7, Kap. 3.12). Bei der Betrachtung der (öko-)toxikologischen Daten werden nur die mikrobiologischen Tests betrachtet, da die Tests mit Collembolen und Regenwürmern nicht zur einer Beurteilung der Abfalleluate herangezogen werden können.

Es wird darüberhinaus beurteilt, inwieweit die Toxizität mit Hilfe der chemischen Analytik vorausszusagen oder zu erklären ist.

##### **4.4.1 CA 205 Feste Pyrolyserückstände**

Das unverdünnte IP9-Eluat von CA 205 enthält 48,7 mg Pb/L und 30,6 mg Zn/L. Cu, Mn und Sr liegen in sehr niedrigen Konzentrationen (unter 5 mg/L) vor (Tab. 4.2). Die hohe Leuchtbakterientoxizität ( $EC_{50}$ -Wert = 0,74 mL/L) kommt offensichtlich durch das Zusammenwirken enthaltener Elemente zustande, ev. auch durch nicht analysierte organische Bestandteile, denn in einer Verdünnung von 0,74 mL/L enthält das Eluat nur 0,003 mg Cu/L, 0,04 mg Pb/L und 0,02 mg Zn/L. Diese Werte liegen deutlich unter den aus der Literatur bekannten für Leuchtbakterien relevanten  $EC_{50}$ -Werten einzelner Schwermetalle: 0,03 mg Cu/L, 0,11 mg Pb/L (QUERESHI et al. 1984), 2,7 mg Zn/L (CODINA et al. 1993). Daß Cu und Zn synergistisch wirken können, stellten schon BOIS et al. (1988) fest.

Für die Mutagenität gilt ähnliches.  $CuCl_2$ ,  $Pb(NO_3)_2$  und  $ZnCl_2$  sind einzeln mutagen, jedoch bedarf es dazu wesentlich höherer Konzentrationen als jener im verdünnten Eluat. Dazu müßte Cu in einer Konzentration von mindestens 14,2 mg/L vorliegen, Pb in einer Konzentration von mindestens 642,5 mg/L (ULITZUR und BARAK 1988) und Zn in einer Konzentration von mindestens 14,4 mg/L (ULITZUR 1986). Offensichtlich findet jedoch eine Metabolisierung zumindest eines Teils der Inhaltsstoffe durch den S9-Mix statt, da die Mutagenität ohne S9-Mix deutlich reduziert, aber in einen niedrigeren Konzentrationsbereich versetzt wird. Daß im darüberliegenden, höheren Konzentrationsbereich keine Mutagenität mehr festgestellt werden kann, die optische Dichte aber noch nicht sichtbar reduziert ist, liegt of-



**Tab. 4.1** Ausgewählte Elemente und Anionen in den Grundwassereluaten. In den Eluaten 156-GW und 155-GW sind außerdem organische Schwefel- und Stickstoffverbindungen enthalten. Analytik: M. Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik, TU Braunschweig

mg/L	GW	204-GW <sup>1)</sup>	202-GW	158-GW	157-GW	156-GW	155-GW	153-GW	151-GW	150-GW
<b>Cd</b>	0,82	< 2,5	12.200,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Co</b>	< 0,5	< 2,5	3,92	< 2,5	< 2,5	7,97	1,26	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Cr</b>	< 0,5	36,30	< 2,5	0,69	0,79	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Cu</b>	1,27	< 2,5	460,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Mn</b>	20,70	412,0	14,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Ni</b>	0,36	33,50	50,40	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Pb</b>	< 0,5	17,80	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	205,0	< 2,5	262,0
<b>Sr</b>	0,32	< 2,5	4,67	11,10	114,0	3,02	< 2,5	44,60	31,90	15,30
<b>Zn</b>	72,60	59,30	4.500,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	19,0	12,40	6,27
<b>Bromid</b>	< 2,5	< 100	5.900,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 20	525,0	169,0	123,0
<b>Chlorid</b>	75,40	< 100	13.100,0	75,40	71,10	80,80	69,5	106.000,0	35.300,0	26.300,0
<b>Fluorid</b>	< 2,5	< 100	< 50	< 2,5	< 2,5	20.300,0	10.100,0	< 100	< 20	< 20
<b>Nitrat</b>	24,70	< 100	< 50	19,40	< 2,5	< 50	114,0	196,0	< 20	< 20

1) enthält 114 g Fe/L

#### 4. Diskussion

**Tab. 4.2.** Ausgewählte Elemente und Anionen in den IP9-Eluaten. In den Eluaten 205-IP9, 156-IP9 und 155-IP9 sind außerdem organische Schwefel- und Stickstoffverbindungen enthalten. Analytik: M. Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik, TU Braunschweig

mg/L	205-IP9	204-IP9 <sup>1)</sup>	202-IP9	158-IP9	157-IP9	156-IP9	155-IP9	153-IP9	151-IP9	150-IP9
<b>Cd</b>	< 2,5	21,1	16.100,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	3,02
<b>Co</b>	< 2,5	5,25	< 2,5	< 2,5	< 2,5	4,48	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Cr</b>	< 2,5	23,0	< 2,5	1,17	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Cu</b>	3,49	< 2,5	164,0	0,66	< 2,5	< 2,5	< 2,5	3,59	< 2,5	< 2,5
<b>Mn</b>	3,39	342,0	12,7	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Ni</b>	< 2,5	42,2	62,7	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Pb</b>	48,7	< 2,5	1.610,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	2.040,0	< 2,5	10,6
<b>Sr</b>	4,06	< 2,5	< 2,5	1,59	25,0	2,17	0,43	58,9	52,3	19,9
<b>Zn</b>	30,6	13,5	9.010,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	57,0	< 2,5	< 2,5
<b>Bromid</b>	< 500	< 500	13.600,0	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500
<b>Chlorid</b>	172.000,0	150.000,0	180.000,0	193.000,0	206.000,0	185.000,0	188.000,0	241.000,0	214.000,0	215.000,0
<b>Fluorid</b>	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	2)	21.000,0	< 500	< 500	< 500
<b>Nitrat</b>	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500	< 500

1) enthält 112 g Fe/L

2) keine genaue Angabe, liegt aber in gleicher Größenordnung wie bei 155-IP9 (Müller, mündliche Mitteilung)

**Tab. 4.3.** Ausgewählte Elemente und Anionen in den IP21-Eluaten und der Q-Lauge Beienrode. Im Eluat 155-IP21 sind außerdem organische Schwefel- und Stickstoffverbindungen enthalten. Analytik: M. Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik, TU Braunschweig. n. b. = nicht bestimmt.

mg/L	IP21	202-IP21	158-IP21	157-IP21	155-IP21	153-IP21	151-IP21	150-IP21	IP21 dot.	Q-Lauge
<b>Cd</b>	< 2,5	1.050,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	19,3	< 2,5	2,56	94,5	63,0
<b>Co</b>	< 2,5	3,04	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Cu</b>	< 2,5	556,0	5,30	< 2,5	< 2,5	2,86	< 2,5	< 2,5	9,96	1,39
<b>Hg</b>	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	2,85
<b>Mn</b>	< 2,5	19,6	< 2,5	1,26	0,38	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5
<b>Ni</b>	< 2,5	37,9	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	< 2,5	296,0	< 2,5
<b>Pb</b>	< 2,5	3.110,0	1,95	< 2,5	< 2,5	429,0	< 2,5	14,7	2.340,0	679,0
<b>Sr</b>	< 2,5	< 2,5	0,60	35,2	< 2,5	13,4	40,0	17,9	< 2,5	< 2,5
<b>Zn</b>	< 2,5	4.330,0	< 2,5	< 2,5	< 2,5	73,4	< 2,5	26,6	4.970,0	6,92
<b>Bromid</b>	< 500	5.680,0	159,0	< 500	< 500	196,0	147,0	< 500	n. b.	n. b.
<b>Chlorid</b>	259.000,0	232.000,0	313.000,0	316.000,0	304.000,0	274.000,0	256.000,0	272.000,0	n. b.	n. b.
<b>Nitrat</b>	< 500	510,0	994,0	10.200,0	784,0	< 500	< 500	< 500	n. b.	n. b.

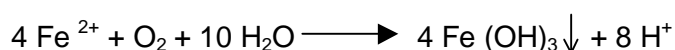
fenbar an subletalen Wirkungen, die noch zu keiner Wachstumshemmung der Population, wohl aber zur Lumineszenzhemmung führen.

Im Eluat 205-IP9 führen offensichtlich starke synergistische Effekte und/oder toxische organische Bestandteile zu der ermittelten Toxizität und Gentoxizität. Diese Effekte wirken im Hemmtest nach OFFHAUS deutlich weniger hemmend auf die Testorganismen. Das liegt mit großer Wahrscheinlichkeit an der bereits besprochenen Schwermetall-Toleranz der Abwasser-Mikroorganismen und/oder einer Toleranz gegenüber den organischen Bestandteilen.

#### 4.4.2 CA 204 Eisen(II)sulfat (Grünsalz)

Im Grundwasser-Eluat finden sich mittlere Gehalte (über 10 mg/L, unter 100 mg/L) von Cr, Ni, Pb und Zn (Tab. 4.1). Inwieweit diese Elemente in der im Leuchtbakterientest ermittelten Konzentration für den  $EC_{50}$ -Wert des Eluats in Höhe von 31,5 mL/L verantwortlich sein können, ist schwer abschätzbar, zudem durch Niederschlagsbildung bei der Neutralisation vermutlich noch wesentlich geringere Gehalte dieser Elemente im Eluat vorliegen. Hinzu kommt, daß Leuchtbakterien laut CODINA et al. (1993) weniger empfindlich auf Cr und Ni reagieren, als auf andere Schwermetalle.

Mn liegt in höherer Konzentration vor, berechnet auf 31,5 mL/L sind es 13 mg Mn/L. Sehr hoch ist jedoch der Fe-Gehalt im unverdünnten Eluat mit 114 g/L, entsprechend 3,6 g/L bei 31,5 mL/L. Der pH-Wert spielt ebenfalls eine Rolle, da dieser nach der Neutralisation aufgrund der Oxidation des in hoher Konzentration vorliegenden Fe(II)-Gehaltes sehr schnell wieder abfällt:



Im IP9-Eluat liegen Cr, Mn und Ni in ähnlichen Größenordnungen vor wie im Grundwasser-Eluat. Zn ist niedriger konzentriert, Pb wurde nicht nachgewiesen. Stattdessen liegt Cd in einer Konzentration von 21,1 mL/L vor. Fe erreicht eine Konzentration von 112 g/L (Tab. 4.2). Der Chlorid-Gehalt ist wie in allen IP-Eluaten sehr hoch. 204-IP9 wurde vor Einsatz im Hemmtest nach OFFHAUS nicht neutralisiert. Der dadurch bedingte, auch nach der Verdünnung des Eluats auf die testrelevanten Konzentrationen niedrige pH-Wert führt zumindest bis zu einer Konzentration von 10 mL/L (pH 3,5) zu einer Schädigung der Abwasser-Mikroorganismen (s. Kap. 2.1.3), kann aber nicht allein für die Toxizität des Eluats verantwortlich sein, da auch bei 0,25 mL/L eine 60%-ige Hemmung des Sauerstoffverbrauchs festgestellt wurde, obwohl der pH-Wert hier bereits bei 5,5 liegt. Es stellt sich die Frage, wie es trotz sehr geringer Schadstoffkonzentration (z. B. 0,005 mg Cd in 0,25 mL) und in dieser Konzentration tolerierbarem pH-Wert dennoch zu einer starken Hemmung des Sauerstoffverbrauchs kommen

kann. Offensichtlich ist der enorm hohe Gehalt an  $\text{Fe}^{2+}$  (28 mg in 0,25 mL) Grund für diesen Effekt.

Weitere Ausführungen dazu finden sich unter Kap. 4.5.

#### 4.4.3 CA 202 E-Filterstaub Sonderabfallverbrennung

Das Grundwassereluat enthält z. T. extrem hohe (über 4.000 mg/L, teilweise über 10.000 mg/L) Konzentrationen an Cd, Zn, Chlorid und Bromid, eine vergleichsweise mittlere Konzentration an Cu (unter 500 mg/L) und geringe Gehalte (bis 50 mg/L) an Co, Mn, Ni und Sr (Tab. 4.1). Die hohe Toxizität dieses Eluats in Leuchtbakterien-, MUTATOX<sup>TM</sup>- und Hemmtest nach OFFHAUS kann auf den Gehalt einzelner, aber vermutlich zusammenwirkender toxischer Substanzen im Eluat zurückgeführt werden. Verantwortlich für die Gentoxizität des Eluats bereits in sehr niedrigen Konzentrationen (0,125 – 0,5 mL/L ohne S9) sind vermutlich synergistische Effekte. Cd und Chlorid besitzen in Kombination ein gentoxisches Potential, jedoch nach ULITZUR (1986) erst bei 50 mg/L. In 0,5 mL 202-GW sind aber nur maximal 9,9 mg  $\text{CdCl}_2$  enthalten  $\text{CuCl}_2$  und  $\text{ZnCl}_2$  sind ebenfalls gentoxisch, liegen aber auch unterhalb der von ULITZUR (1986) und ULITZUR und BARAK (1988) ermittelten Konzentrationen (Cu: 0,23 mg/L statt 14,2 mg/L; Zn: 2,3 mg/L statt 14,4 mg/L).

Auch IP9- und IP21-Eluat (Tab. 4.2 und 4.3) enthalten hohe Konzentrationen an Cd, Zn, Chlorid und Bromid, eine mittlere Konzentration an Cu und geringe Co- (nur IP21), Mn- und Ni-Konzentrationen. Bei diesen Eluaten kommt jedoch noch ein hoher Pb-Gehalt dazu.

Von den Eluaten mit CA 202 ist 202-IP9 das Eluat mit der höchsten Leuchtbakterientoxizität. Da es von allen drei Eluaten die höchste Cd-Konzentration und hohe Pb- und Zn-Gehalte aufweist, konnte ein solches Ergebnis auch anhand der Analytik erwartet werden. Im IP21-Eluat ist zwar der Pb-Gehalt noch höher, die Cd- und Zn-Konzentration aber wesentlich geringer, für Cd auch im Vergleich zum Grundwassereluat, so daß sich leicht erklären läßt, warum 202-IP21 von den CA 202-Eluaten die ‚geringste‘ Leuchtbakterientoxizität aufweist. Auch im MUTATOX<sup>TM</sup>-Test schlagen sich die unterschiedlichen Cd-, Pb- und Zn-Konzentrationen der drei Eluate nieder. 202-IP9 ist bereits ab 0,063 mL/L mutagen, 202-GW und 202-IP21 führen erst ab 0,125 mL/L zu einem gentoxischen Effekt.

In dieser Konzentration von 0,063 mL/L enthält 202-IP9 jedoch nur 0,64 mg  $\text{CdCl}_2$ /L. Der hohe Pb-Gehalt von 202-IP21 kommt bei weitem nicht in den von ULITZUR und BARAK (1988) ermittelten gentoxischen Konzentrationsbereich um 643 mg Pb/L, sondern liegt in der gentoxisch wirkenden Konzentration des Eluats (0,125 mL/L) bei nur 0,4 mg/L. Hier sind also wiederum starke Synergismen zu erwarten.

Der Hemmtest nach OFFHAUS zeigt im Vergleich zum Leuchtbakterientest ein ähnliches Bild. 202-IP21 ist deutlich geringer toxisch als GW- und IP9-Eluat, eine Differenzierung zwi-

schen letzteren wird jedoch nicht deutlich (s. Tab. A.5 im Anhang) und ist offensichtlich ein Hinweis auf die geringere Empfindlichkeit der Abwasser-Mikroorganismen.

Auffällig ist, daß die Mutagenität bei allen drei Eluaten durch den S9-Mix, also durch Metabolisierung, deutlich verringert, bei 202-IP21 sogar eliminiert wird. Die Eluate müssen also metabolisierbare Bestandteile enthalten. Denkbar wäre hier zumindest für 202-IP9, daß sich leucht bakterientoxische und mutagene Effekte überlagern, weil dieses Eluat bei 0,25 mL/L einen leichten gentoxischen Effekt zeigt, ab 0,5 mL/L aber die optische Dichte bereits deutlich reduziert. Für 202-GW und 202-IP21 ist dieses unwahrscheinlicher, weil ersteres gar nicht, letzteres erst ab 2 mL/L die optische Dichte verringert.

#### 4.4.4 CA 158 Filterstaub Steinkohlekraftwerk

In 158-GW können außer geringen Konzentrationen an Sr und Nitrat sowie sehr wenig Cr keine Schwermetalle bzw. toxischen Bestandteile nachgewiesen werden (Tab. 4.1). Es entspricht daher der Erwartung, daß das Eluat im Hemmtest nach OFFHAUS und MUTATOX™-Test nicht toxisch bzw. mutagen wirkt. Im Leucht bakterientest wirkt es jedoch toxisch ( $EC_{50}$ : 38,5 mL/L). Dieses kann aber nicht direkt auf das enthaltene Nitrat und Sr zurückgeführt werden, da z. B. 157-IP21 (Tab. 4.3) wesentlich mehr Nitrat und Sr enthält, ein  $EC_{50}$  hier aber aufgrund der geringen Toxizität nicht ermittelt werden kann. 157-IP9 (Tab. 4.2) enthält im Vergleich zu 158-GW mehr als doppelt so viel Sr, wirkt aber stimulierend und nicht toxisch. Hier kann der hohe pH-Wert von 158-GW (pH 9,5 bei 100 mL/L) eine Rolle spielen. Unter ungünstigen pH-Bedingungen können toxische Bestandteile in ihrer Wirkung noch verstärkt werden.

Im IP9-Eluat (Tab. 4.2) liegen lediglich geringe Gehalte an Cr, Cu und Sr vor. Das Eluat wirkt nicht leucht bakterientoxisch.

Im Hemmtest nach OFFHAUS kommt es bei 50 mL/L zu einer 35%-igen Hemmung, die mit den vorliegenden analytischen Ergebnissen nicht erklärt werden kann.

158-IP21 (Tab. 4.3) enthält geringe Gehalte an Cu, Pb und Sr, sowie hohe Bromid- und sehr hohe Nitratgehalte, die insgesamt einen  $EC_{50}$  von 43,8 mL/L im Leucht bakterientest plausibel machen, jedoch nicht erklären können, warum die Toxizität dieses Eluats etwas geringer ist, als die des Grundwassereluats. Aufgrund der Ergebnisse aus der chemischen Analytik wäre der umgekehrte Fall zu erwarten.

Die 28%-ige Hemmung des Sauerstoffverbrauchs bei einer Eluatkonzentration von 50 mL/L kann auch hier nicht mit Hilfe der chemischen Analyse erklärt werden. Der hohe Nitratgehalt von 49,7 mg in der 50 mL/L-Verdünnung dürfte keine negativen Auswirkungen auf die Abwasser-Mikroorganismen haben, denn die Gehalte an Nitrat im Abwasser sind üblicherweise sehr hoch, so daß eine Anpassung der Abwasser-Mikroorganismen an dieses Anion erwartet

werden kann. Bereits in Rohwässern (Grund-, Fluß- oder Seewasser) liegen vielfach Konzentrationen über 50 mg Nitrat/L vor (BICK 1989). Inwieweit die Toxizität der Eluate von CA 158 mit den enthaltenen organischen Bestandteile zusammenhängen, kann aufgrund von Problemen bei der Analytik der Organika (MÜLLER, mündliche Mitteilung) nicht geklärt werden.

#### 4.4.5 CA 157 Filterstaub Braunkohlekraftwerk

Das Eluat GW-157 (Tab. 4.1) enthält sehr wenig Cr, aber eine etwas höhere Konzentration an Sr (114 mg im unverdünnten Eluat). Im Hemmtest nach OFFHAUS bewirkt das Eluat bei 10 mL/L eine 16%-ige Stimulation des Sauerstoffverbrauchs, bei 20 mL/L dagegen eine 97%-ige Hemmung. Es weist im Leuchtbakterientest einen  $EC_{50}$  von 6,8 mL/L auf und ist zudem mit S9 mutagen. Offensichtlich findet Metabolisierung (nicht analysierter) organischer Inhaltsstoffe statt, wodurch die Mutagenität des Eluats zustandekommt. Neben dem erhöhten Sr-Gehalt müssen also organische Bestandteile enthalten sein. Auch kann der hohe pH-Wert (pH 9,8 bei 100 mL/L) für diese Effekte mitverantwortlich sein.

157-IP9 (Tab. 4.2) enthält nur wenig Sr, ruft im MICROTOX<sup>TM</sup>-Test eine Stimulation hervor und ist im Hemmtest nach OFFHAUS nicht toxisch. Diese Ergebnisse können aufgrund der Analysen-Ergebnisse auch erwartet werden, wenn man die Stimulation der Lichtemission im Leuchtbakterientest den im Eluat vorhandenen Nährsalzen zuschreibt.

157-IP21 (Tab. 4.3) ist zwar toxisch in Leuchtbakterientest und im Hemmtest nach OFFHAUS, jedoch so geringfügig, daß keine  $EC_{50}$ -Werte ermittelt werden können (13% Hemmung bei 20 mL/L im Hemmtest nach OFFHAUS). Den analytischen Ergebnissen zufolge enthält dieses Eluat nur geringe Gehalte an Mn und Sr (unter 40 mg/L). Der Sr-Gehalt ist geringer als im Grundwassereluat.

#### 4.4.6 CA 156 Gasreinigungsmasse (Leitung außer Betrieb)

156-GW (Tab. 4.1) enthält geringe Konzentrationen an Co und Sr, eine hohe Fluoridkonzentration sowie organische Schwefel- und Stickstoffverbindungen. Die Wirkungen dieses Eluats müssen daher durch Fluorid und organische Inhaltsstoffe hervorgerufen werden. Die organischen Inhaltsstoffe stimulieren die Atmung der Abwasser-Mikroorganismen stark und sind offensichtlich durch sie abbaubar, für die Leuchtbakterien jedoch toxisch und im MUTATOX<sup>TM</sup>-Test mutagen. BRASSER et al. (1998, Teilergebnis SCHRAMM et al.) wiesen einen hohen Eigen-BSB (Sauerstoffverbrauch ohne Zusatz von Pepton) nach, der diese Ausführungen bestätigt.

156-IP9 (Tab. 4.2), das ebenfalls geringe Co- und Sr-Konzentrationen und organische Inhaltsstoffe sowie Ammonium und Fluorid enthält (MÜLLER, mündliche Mitteilung; Fluorid liegt in gleicher Größenordnung vor wie in 155-IP9), muß insgesamt deutlich anders zusammengesetzt sein. Es kommt hier im Hemmtest nur bei 10 mL/L zu einer Stimulation, bei 50 mL/L dagegen zu einer 22%-igen Hemmung des Sauerstoffverbrauchs. Der  $EC_{50}$  im Leuchtbakterientest ist dagegen um 25% höher als für das Grundwassereluat. Möglicherweise wirken Bestandteile des Eluats in niedrigeren Konzentrationen stimulierend, in höheren dagegen toxisch. Denkbar wäre auch, daß abbaubare Stoffe neben in höheren Konzentrationen toxischen Inhaltsstoffen im Eluat enthalten sind. Solange die toxische Konzentration letzterer nicht erreicht wird, können die abbaubaren Stoffe metabolisiert werden, bei Erreichen dieser Konzentration jedoch wird der Abbau gehemmt und es kann keine Stimulation mehr nachgewiesen werden. Auch in diesem Eluat fanden BRASSER et al. (1998, Teilergebnis SCHRAMM et al.) einen hohen Eigen-BSB.

Für beide Eluate gilt, daß im MUTATOX<sup>TM</sup>-Test keine Veränderung der Mutagenität durch den S9-Mix hervorgerufen wird, d. h. eine Metabolisierung der mutagenen Inhaltsstoffe ist entweder nicht möglich, oder sie führt zu keiner Veränderung ihrer Mutagenität.

Der Versuch, die organischen Inhaltsstoffe aus 156-IP9 mit Hilfe von Heptan zu extrahieren, führt zu keinem Erfolg, die Toxizität im Leuchtbakterientest steigt sogar an. Dieses kann dadurch zustandekommen, daß sich etwas Heptan in der wäßrigen Phase gelöst hat, was in geringen Mengen möglich ist. Umgekehrt kann es aber auch sein, daß sich reines Wasser aus der wässrigen Phase im Heptan gelöst und so für eine Aufkonzentrierung von Schadstoffen (z. B. Aminen) in der wäßrigen Phase gesorgt hat.

#### 4.4.7 CA 155 Gasreinigungsmasse (Leitung in Betrieb)

Das Grundwassereluat von 155 weist 1,26 mg Co/L, einen mittleren Nitratgehalt sowie eine sehr hohe Fluoridkonzentration und organische Schwefel- und Stickstoffverbindungen auf (Tab. 4.1). Offensichtlich sind diese organischen Verbindungen von den Abwasser-Mikroorganismen abbaubar, ohne toxisch zu wirken, da das Eluat im Hemmtest nach OFFHAUS stimulierend auf die Atmung der Organismen wirkt. Dagegen rufen die Inhaltsstoffe des Eluats im Leuchtbakterientest starke toxische Wirkungen und im MUTATOX<sup>TM</sup>-Test mutagene Effekte hervor.

BRASSER et al. (1998, Teilergebnis SCHRAMM et al.) fanden einen geringfügigen Eigen-BSB bei 155-GW und 155-IP9.

Hier besteht also eine deutliche Diskrepanz in der Wirkung auf die unterschiedlichen Testorganismen. Daran wird ersichtlich, wie sinnvoll und notwendig der Einsatz verschiedener Testsysteme ist (s. Kap. 1).



Das IP9-Eluat enthält neben organischen Schwefel- und Stickstoffverbindungen und Fluorid nur eine sehr geringe Sr-Konzentration (Tab. 4.2). Hier gilt für die Abwasser-Mikroorganismen das gleiche wie bei 155-GW. Im Leuchtbakterientest ist das Eluat dagegen weniger toxisch. Es kann angenommen werden, daß der leuchtbakterientoxische Effekt der beiden Eluate nicht allein durch das Fluorid hervorgerufen wird, sondern mit den organischen Inhaltsstoffen zusammenhängt, da der Fluoridgehalt im IP9-Eluat höher ist als im Grundwassereluat, die Toxizität aber geringer. Das Nitrat im Grundwassereluat kann ebenfalls nicht allein für die höhere Toxizität verantwortlich sein, denn das IP21-Eluat (Tab. 4.3) enthält eine wesentlich höhere Nitrat-Konzentration, ist aber weder im Hemmtest nach OFFHAUS noch im Leuchtbakterientest toxisch. Im MUTATOX<sup>TM</sup>-Test ist 155-IP21 erst in höheren Konzentrationen mutagen (25 mL/L), im Gegensatz zu den beiden anderen Eluaten, die bereits ab 3 mL/L mutagen wirken.

Die stimulierende Wirkung, die Grundwasser- und IP9-Eluat auf die Abwasser-Mikroorganismen haben, bleibt bei 155-IP21 aus, so daß davon ausgegangen werden muß, daß die organischen Inhaltsstoffe in diesem Eluat von geringerer Konzentration oder andersartiger Zusammensetzung sind. Auch konnte kein Eigen-BSB festgestellt werden (BRASSER et al. 1998, Teilergebnis SCHRAMM et al.). Für diese Annahme spricht auch die mangelnde Toxizität im Leuchtbakterientest. Daß trotz mangelnder Toxizität in Leuchtbakterientest und Hemmtest nach OFFHAUS eine mutagene Wirkung des Eluats festzustellen ist, macht wiederum deutlich, wie notwendig es ist, mehrere Testsysteme bei der Bewertung möglicherweise ökotoxikologischer Substanzen einzusetzen.

Die Eluate der Abfälle CA 156 und CA 155 weisen einige Parallelen auf, die darauf zurückzuführen sind, daß es sich um den gleichen ‚Grundabfall‘ (Gasreinigungsmasse) handelt.

#### 4.4.8 CA 153 Filterstäube aus Hausmüllverbrennung

Die starke Toxizität des Grundwassereluats von CA 153 ist anhand der in mittleren Konzentrationen vorliegenden Inhaltsstoffe Pb, Bromid und Nitrat nicht zu erwarten und kann mit Hilfe einzelner Substanzen nicht begründet werden (Tab. 4.1). Hier müssen also synergistische Effekte zu den hohen Toxizitäten geführt haben (s. dazu auch HAUSER 1996). Der hohe pH-Wert des Eluats (pH 10,5 bei 20 mL/L) scheint dagegen nicht für diese Effekte verantwortlich zu sein, denn das neutralisierte Eluat wirkt im Leuchtbakterientest noch toxischer, und das für den Hemmtest nach OFFHAUS auf pH 9,1 eingestellte Eluat wirkt genauso toxisch wie das ursprüngliche.

Interessanterweise weist das Grundwassereluat von allen drei Eluaten zwar die höchste Toxizität auf, ist aber im Gegensatz zu den IP-Eluaten nicht mutagen.

Bei einem Pb-Gehalt von 2040 mg/L kann von einer starken Toxizität des IP9-Eluats bereits aufgrund der analytischen Ergebnisse ausgegangen werden (Tab. 4.2). QUERESHI et al. (1984) fanden für Pb einen  $EC_{50}$  im Leuchtbakterientest von 0,11 mg/L. Dieser Gehalt wird bei einer Verdünnung von 0,3 mL/L (dem  $EC_{50}$ -Wert für das IP9-Eluat) deutlich überschritten (0,6 mg Pb/L), so daß eventuell sogar antagonistische Effekte in diesem Eluat auftreten, da gemessen am Wert von QUERESHI et al. (1984) der  $EC_{50}$ -Wert schon bei 0,055 mL Eluat /L liegen müßte. Wie bei 153-GW ist auch hier offensichtlich nicht der hohe pH-Wert (pH 10 bei 20 mL/L) für die Effekte verantwortlich.

Für die Mutagenität des Eluats müssen dagegen synergistische Effekte verantwortlich sein, denn in der mutagenen Konzentration von 25 mL/L liegen nur ca. 51 mg Pb vor, obwohl laut ULITZUR und BARAK (1988)  $Pb(NO_3)_2$  erst ab 1027 mg/L (entsprechend 642,5 mg Pb/L) mutagen wirkt. Über die Mutagenität anderer Pb-Salze liegen keine Daten vor, so daß keine Aussage darüber gemacht werden kann, ob eventuell eine andere Speziation des Bleis bereits in niedrigeren Konzentrationen mutagen wirkt. Eingegrenzt wird diese Möglichkeit ohnehin durch die im allgemeinen sehr geringe Wasserlöslichkeit (s. Löslichkeitsprodukte in Tab. 4.4) von Pb-Salzen.

**Tab. 4.4.** Löslichkeitsprodukte einiger Pb-Salze, angegeben als negativer Logarithmus ( $-\lg L$ ) bei 25 °C; Ionenstärke 0 (25/0). Angaben: BINNEWIES 1996.

Salz	Löslichkeitsprodukt $-\lg L$ (25/0)
$Pb^{2+}$ $BrO_3^{1-}$	5,1
$Pb^{2+}$ $Cl^{1-}$	4,78
$Pb^{2+}$ $CO_3^{2-}$	13,13
$Pb^{2+}$ $F^{1-}$	7,44
$Pb^{2+}$ $HPO_3^{2-}$	11,43
$Pb^{2+}$ $I^{1-}$	8,1
$Pb^{2+}$ $IO_3^{1-}$	12,61
$Pb^{2+}$ $OH^{1-}$	15,3
$Pb^{2+}$ $PO_3^{3-}$	43,53 (38 °C)
$Pb^{2+}$ $S^{2-}$	27,5
$Pb^{2+}$ $SO_4^{2-}$	7,79

153-IP21 ist von den drei Eluaten in den durchgeführten Tests am wenigsten toxisch. Der Pb-Gehalt dieses Eluats (429 mg/L) ist um ca. ein Viertel geringer als der des IP9-Eluats

(2.040 mg/L), so daß die geringere Toxizität gegenüber 153-IP9 plausibel erscheint. Cd, Cu, Sr und Zn liegen nur in geringen Konzentrationen vor, Bromid ist etwas höher konzentriert. Die Mutagenität beider IP-Eluate entsteht eindeutig durch Einwirkung der Elutionsmittel auf den Abfall, da das Grundwassereluat keine mutagenen Reaktionen hervorruft. Die Untersuchung von synthetisch hergestellten Schadstofflösungen auf der Basis der nachgewiesenen Elemente, deren Chloride, Nitrate oder Sulfate zu den IP-Laugen gegeben wurden, ergab im MUTATOX™-Test ähnliche Effekte (HAUSER 1996) wie die Original-Eluate und bestätigt synergistische Effekte als Begründung für die Mutagenität.

#### 4.4.9 CA 151 Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung

151-GW enthält wenig Sr und Zn, sowie eine mittlere Bromid-Konzentration (Tab. 4.1). Dennoch ist es im Hemmtest nach OFFHAUS und im Leuchtbakterientest deutlich toxisch. Diese Wirkung kann anhand der vorliegenden chemischen Analyse nur mit dem Bromid und dem hohen pH-Wert (pH 10,8 bei 50 mL/L) zusammenhängen. Im Gegensatz dazu steht das IP9-Eluat (Tab. 4.2), das nur eine geringe Konzentration an Sr und kein Bromid enthält und im Hemmtest nach OFFHAUS nicht toxisch, im Leuchtbakterientest stimulierend auf die Lichtemission wirkt. Mangelnde Toxizität und Nährstoffe in ausreichendem Angebot führen hier offensichtlich zur Anregung des Stoffwechsels der Leuchtbakterien.

Bromid ist, wie im Grundwassereluat, auch im IP21-Eluat in einer mittleren, gegenüber dem Grundwassereluat etwas geringeren Konzentration enthalten. Da neben diesem Anion nur noch Sr in geringer Konzentration vorliegt, kann die im Vergleich zum Grundwassereluat etwas geringere Toxizität nur auf dieses Bromid sowie auf den weniger hohen pH-Wert (pH 8,1 bei 50 mL/L) zurückgeführt werden, wenn das Eluat nicht andere, nicht detektierte Inhaltsstoffe enthält.

#### 4.4.10 CA 150 Aschen und Schlacken aus Hausmüllverbrennung

150-GW enthält Pb und Bromid in mittleren, Sr und Zn in geringeren Konzentrationen (Tab. 4.1) und ist erwartungsgemäß in Leuchtbakterientest und Hemmtest nach OFFHAUS deutlich toxisch. In 150-IP9 wurden geringe Konzentrationen von Pb und Sr nachgewiesen (Tab. 4.2). Das Eluat hat im Leuchtbakterientest einen  $EC_{50}$  von 21,2 mL/L. Diese Eluatverdünnung entspricht einer Pb-Konzentration von 0,22 mg/L und liegt damit doppelt so hoch wie die von QUERESHI et al. (1984) ermittelte Konzentration von 0,11 mg/L für den  $EC_{50}$ -Wert. Hier müssen also antagonistische Effekte die Toxizität des Bleis etwas mindern.

Die im Hemmtest nach OFFHAUS beobachtete Stimulation liegt vermutlich einerseits an der bereits erwähnten Schwermetalltoleranz der Abwasser-Mikroorganismen (s. Kap. 4.3.3), so

daß das Pb keinen negativen Effekt auf die Abwasser-Mikroorganismen ausüben kann, andererseits an der Präsenz von Nährsalzen, die nicht durch toxische Substanzen abgeschwächt werden.

Im IP21-Eluat von CA 150 (Tab. 4.3) liegen Cd, Pb, Sr und Zn in geringen Konzentrationen vor. Hier kommt es aber nicht wie beim IP9-Eluat zu einer Stimulation des Sauerstoffverbrauchs, sondern zu einer toxischen Wirkung, die möglicherweise auf einen synergistischen Effekt zurückzuführen und allein anhand der chemischen Analysen-Ergebnisse nicht zu erwarten ist.

Obwohl es sich bei CA 151 und CA 150 um die gleiche Abfallart handelt, können doch einige Unterschiede in deren Wirkung und Zusammensetzung festgestellt werden. Dieses ist ein Hinweis darauf, daß die Analysen- und Ökotoxizitätsdaten einer Abfallart nicht unbesehen auf alle zu dieser Abfallart gehörenden Abfälle übertragen werden können.

#### 4.4.11 IP21 dot. (nach REICHELT et al., 1995, dotierte IP21-Lauge)

IP21 dot. (Tab. 4.3) enthält unverdünnt ungefähr 10 mg Cu/L, 95 mg Cd/L und ca. 300 mg Ni/L sowie hohe Pb- und Zn-Konzentrationen (über 2.000 mg/L). Die starke toxische Wirkung im Leuchtbakterientest und im Hemmtest nach OFFHAUS kann daher vorausgesagt werden. Da es sich um eine synthetische Testlösung handelt, ist der Gesamtschadstoffgehalt bekannt. Die nach der Einwaage berechneten und die analysierten Elementgehalte entsprechen sich für die meisten Elemente nahezu. Lediglich Pb und Ni sind geringer konzentriert, wobei sich der geringere Pb-Gehalt durch die Ausfällungen ( $\text{PbCl}_2$  und  $\text{PbSO}_4$ ), der geringere Ni-Gehalt dagegen nicht erklären läßt.

#### 4.4.12 Q-Lauge Beienrode (Original-Q-Lauge, dotiert nach Dr. T. Brasser)

Die Q-Lauge Beienrode enthält geringe Cu-, Hg- und Zn-Konzentrationen (unter 10 mg/L) sowie 63 mg Cd/L und 680 mg Pb/L (Tab. 4.3). Die im Vergleich zu IP21 dot. geringeren Schwermetall-Gehalte machen die geringere Toxizität im Hemmtest nach OFFHAUS bei 10 mL/L (27% Hemmung, im Vergleich dazu IP21 dot.: 80% Hemmung) plausibel. Bei 50 mL/L wirkt diese Schadstofflösung dagegen etwas toxischer (100% Hemmung im Vergleich zu 93% bei IP21 dot.), so daß hier möglicherweise das Hg eine stärkere Wirkung zeigt, oder aufgrund von Gleichgewichtsverschiebungen andere Speziationen und Synergismen vorliegen.

#### 4.4.13 Schlußfolgerungen zur Interpretation der Testergebnisse

Die Interpretation der Testergebnisse anhand der analytischen Daten zeigt, daß bei hohen Schadstoffkonzentrationen eine Vorhersage der Toxizität mit Hilfe der chemischen Analyse zwar möglich ist, daß aber Probleme auftauchen können, sobald die Schadstoffkonzentrationen gering sind. Betrachtet man die  $EC_{50}$ -Werte einzelner Elemente aus der Literatur (CODINA et al. 1993, QUERESHI et al. 1984), stellt man fest, daß relevante Konzentrationen häufig unter der gerätebedingten Nachweisgrenze (z. B. Cu: 0,03 mg/L, Nachweisgrenze: < 0,2 mg/L; Pb: 0,11 mg/L, Nachweisgrenze: < 0,5 mg/L) liegen. Die Beurteilung einzelner Inhaltsstoffe ist zudem aufgrund der Komplexität der Abfalleluate nur bedingt möglich, da die Wirkung der Stoffe bei Anwesenheit unterschiedlicher Begleitstoffe sehr unterschiedlich ausfallen kann.

Auch sind ev. vorliegende Synergismen und unterschiedliche Speziationen mit Hilfe der im Rahmen des Projekts durchgeführten chemischen Analyse nicht feststellbar oder voraus sagbar. Viele verschiedene Variablen können ökotoxikologische Effekte hervorrufen und Organismen beeinflussen, ohne direkt mit den betrachteten Schadstoffen zusammenzuhängen. Dazu gehören pH-Wert-Schwankungen, verfügbare oder nicht-verfügbare Nährstoffe, die z. B. die Fitness der Testorganismen beeinflussen können, oder auch Schadstoffe, die nicht vermutet und deshalb nicht bestimmt werden (GUNDERSON et al. 1997). LAMBOLEZ et al. (1994) konnten ebenfalls zu einem großen Teil den Grad der Toxizität der von ihnen untersuchten Abfalleluate nicht vorhersagen. Genauso stellten CAIRNS und NIEDERLEHNER (1990) in ihren Untersuchungen an Sondermüll fest, daß die chemische Analyse zwar durchaus wichtig für die Beurteilung der Konzentration von Giftstoffen ist, aber nicht ausreicht, um das toxikologische Gefahrenpotential und mögliche Effekte auf die Umwelt vorauszusagen. Eine Extrapolation der über die verschiedenen Pfade verfügbaren Stoffanteile aus analysierten Gesamtgehalten ist nicht möglich (DEBUS und HUND 1994). Diese sind nur experimentell zu ermitteln.

Hierin liegt die Notwendigkeit von ökotoxikologischen Tests begründet, ohne deren Einsatz die Abschätzung einer möglichen Umweltgefährdung durch die getesteten Abfalleluate in vielen Fällen nicht möglich ist. Auch MEZZANOTTE et al. (1988) und BESSI (1992) vertreten diese Ansicht in Bezug auf die von ihnen untersuchten Sickerwässer und Abfalleluate.

Stattdessen auf die chemische Analyse zu verzichten, wäre jedoch ebenfalls nicht sinnvoll. So können z. B. die Testlösungen Schadstoffe enthalten, die nicht bioverfügbar sind, aufgrund von Umsetzungsprozessen und Milieuänderungen aber irgendwann bioverfügbar werden könnten und damit ein Gefahrenpotential darstellen. Solche Schadstoffe wären in Ökotoxizitätstests nicht detektierbar.

#### 4.4.14 Zusammenfassende Darstellung im Hinblick auf die verschiedenen Elutionsmittel

Die Elutionsmittel, die auf die Abfälle einwirken, können zu ganz unterschiedlichen Zusammensetzungen und daraus resultierenden Wirkungen der Abfalleluate führen. So war in den IP9-Eluaten kein Nitrat nachweisbar. In einigen GW- und IP21-Eluaten dagegen wurden z. T. hohe Nitrat-Konzentrationen gefunden. Dabei gab es jedoch Unterschiede zwischen den beiden Elutionsmitteln. So enthielt z. B. 157-IP21 sehr viel Nitrat, im entsprechenden Grundwassereluat konnte indes kein Nitrat nachgewiesen werden. Im einzelnen fand sich Nitrat in den Grundwassereluaten von CA 158, CA 155, CA 153 und in den IP21-Eluaten von CA 202, CA 158, CA 157 und CA 155. Cd findet sich zwar in allen drei Eluaten von CA 202, jedoch in deutlich unterschiedlicher Konzentration (202-GW: 12200 mg/L, 202-IP9: 16100 mg/L, 202-IP21: 1050 mg/L). Pb konnte bei CA 202 nur in den IP-Eluaten nachgewiesen werden.

202-IP21 ist im Leuchtbakterientest und im Hemmtest nach OFFHAUS weniger toxisch als das GW- und das IP9-Eluat. Die IP-Eluate von CA 157 sind im Hemmtest nach OFFHAUS geringfügig toxisch, das GW-Eluat gar nicht. Bei CA 157 sind die IP-Eluate im Leuchtbakterientest und im Hemmtest nach OFFHAUS kaum bzw. nicht toxisch, das GW-Eluat dagegen deutlich (besonders im Leuchtbakterientest).

Von CA 151 und CA 150 sind jeweils die IP9-Eluate im Hemmtest nach OFFHAUS nicht toxisch, die anderen Eluate dagegen weisen hier eine mittlere bis hohe Toxizität auf. Drastisch ist auch das MUTATOX™-Ergebnis mit CA 153: Die IP-Eluate sind mutagen, das GW-Eluat nicht.

Diese Effekte können ganz verschiedene Ursachen haben, wie z. B. Bildung oder Auflösung von Komplexen, unterschiedliche Lösungseigenschaften oder eine ‚Grundtoxizität‘ des Grundwassers (s. Tab. 2.2 in Kap. 2.1.1.1).

Auf die dafür verantwortlichen chemischen Zusammenhänge wird an anderer Stelle näher eingegangen (BRASSER et al. 1998).

### 4.5 Sorption und Bioverfügbarkeit von Schadstoffen

#### 4.5.1 Schadstoffe im Boden (mit besonderer Betrachtung der Schwermetalle)

Ein zentrales Thema dieser Arbeit ist die Abschätzung der Auswirkung UTD-relevanter Abfalleluate, wenn sie in die Biosphäre gelangen und dort mit Boden in Kontakt kommen. Die Veränderungen, die die enthaltenen Schadstoffe dadurch erfahren können, sind vielfältig und schwer erfaßbar. Durch sie kann sich das toxikologische Potential der Schadstoffe grundle-

gend ändern. Bodeneigenschaften und die chemische Speziation des Schadstoffes / der Schadstoffe müssen bei Toxizitätstests soweit möglich berücksichtigt werden.

Gelangen Stoffe in den Boden, sind verschiedene Wechselwirkungen mit diesen Stoffen zu erwarten: (1) chemische und physikochemische Wechselwirkungen mit Bodenbestandteilen. Die Toxizität von Schadstoffen kann durch Sorption an die Bodenmatrix, durch Komplexierung mit Bodenbestandteilen oder durch Ausfällung nach Reaktion mit Bodenbestandteilen oder Begleitstoffen verringert werden (VAN BEELEN und DOELMAN 1997). Wird die Wasserlöslichkeit durch z. B. Komplexierung erhöht, kann die Bioverfügbarkeit zunehmen. (2) physiologische Wechselwirkungen, die sich auf die Aufnahme der Schadstoffe aus dem Boden bzw. der Bodenlösung beziehen und damit den Umfang der verfügbaren Schadstoffe am Wirkort bestimmen. (3) Wechselwirkungen im Organismus mit Rezeptoren und Zielorganen während des Eintretens toxischer Wirkungen (VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997). (4) Daraufaufbauend die Aufnahme der Schadstoffe in der Nahrungskette.

Schwermetalle können im Boden an feste Partikel gebunden, ausgefällt oder komplexiert sein. Sie kommen in der Umwelt in verschiedenen chemischen Speziationen vor, von denen ihre Bioverfügbarkeit abhängt (BABICH und STOTZKY 1980, 1986). Dabei sind nach dem heutigen Stand der Forschung noch nicht alle Metallspezies bekannt, die für toxische Wirkungen verantwortlich sind (PEIJNENBURG et al. 1998). Die Komplexierung von Schwermetallen mit anorganischen (z. B. Chlorid) oder organischen Liganden kann deren Löslichkeit und Lipophilie und damit die Toxizität verändern. Bei einer Bewertung von schwermetallbelasteten Substraten ist es deshalb notwendig, die aktuellen, nicht nur die nominalen Konzentrationen zu wissen. Direkte Messungen der Schadstoffkonzentrationen im Porenwasser wären sinnvoll (SMIT und VAN GESTEL 1996), aber auch die Bindungsformen der Schadstoffe im Boden sind von Interesse.

Huminstoffe (STEVENSON 1976, SPOSITO et al. 1979) und verschiedene andere organische Substanzen, z. B. entstanden durch mikrobiologische oder pflanzliche Aktivität (MOREL et al. 1986), können Chelatkomplexe mit Schwermetallen bilden. Die Bioverfügbarkeit von Metallen ist im allgemeinen geringer, wenn sie an einen Liganden gebunden sind. MOREL et al. (1988) versetzten 0, 1, 5 bzw. 20 mg Cu/L mit in dest. Wasser gelöstem Humussäure-Natriumsalz (s. auch Kap. 3.4.3.3). Die eingesetzten Humussäure-Konzentrationen betrugen 0, 5, 50 bzw. 500 mg/L. Sie fanden heraus, daß bei 500 mg Humussäure/L alle eingesetzten Cu-Konzentrationen im MICROTOX™-Test weniger toxisch wirkten, 50 mg/L verminderten die Toxizität bei 1 und 5 mg Cu/L. 5 mg Humussäure/L reduzierten die Toxizität der eingesetzten Cu-Konzentrationen nicht. Laut STEVENSON (1976) bilden Huminsäuren stabile Komplexe mit Cu durch Kationenaustausch an Sauerstoff-tragenden Gruppen. Für die Anlagerung von Metallionen an Huminstoffe sind u. a. freie Radikale verantwortlich (SENESI 1990).

Die Bioverfügbarkeit von Stoffen im Boden ist im wesentlichen an zwei Prozesse gebunden: an einen physikochemischen Desorptionsprozess und einen physiologischen Aufnahme-prozess. Der belebte Boden enthält eine Vielzahl von Arten mit unterschiedlichen, jeweils für sie charakteristischen Expositionswegen. Die Biota weisen einige Besonderheiten auf, so z. B. eine sehr lange dauernde oder sogar fehlende Einstellung des Gleichgewichts im Gegensatz zu den meisten physikochemischen Prozessen und ein konzentrationsabhängiges Auftreten von toxischen Effekten bei den jeweiligen Organismen (PEIJNENBURG et al. 1998). Gerade diese lange dauernde oder fehlende Einstellung des Gleichgewichts macht eine Beurteilung der Toxizität von Schadstoffen im Boden so schwierig, weil sie zu unterschiedlichen Expositionszeiten führen kann. Werden Schadstoffe in Organismen akkumuliert ohne letal zu wirken, stellen sie ein schwer abschätzbares Gefahrenpotential dar.

#### 4.5.2 Komplexbildung

Die Gleichgewichte der Sorption von Schwermetallen in Böden werden von elementspezifischen Eigenschaften, von verschiedenen Bodeneigenschaften wie pH-Wert, Tonmineralien, organischer Substanz und Kationenaustauschkapazität sowie von den vorhandenen Begleitsubstanzen bestimmt (HARTER 1983, ELLIOTT et al. 1986, ANDERSON und CHRISTENSEN 1988). Ein unterschiedliches Sorptionsverhalten von Schwermetallen kommt zum Beispiel dadurch zustande, daß diese eine unterschiedlich starke Neigung zur Bildung verschiedenster Komplexe haben. Während für die Bindung von Schwermetallen an die Oberfläche der Bodenmatrix offensichtlich die Sorption von Metall-Hydroxo-Komplexen verantwortlich ist, können andere anorganische oder organische Schwermetallkomplexe die Sorption von Schwermetallen verringern und ihre Löslichkeit erhöhen (HODGSON et al. 1964). Chloride und Sulfate, die in den IP-Eluaten in beträchtlicher Konzentration enthalten sind, stellen bedeutende Komplexbildner für Schwermetalle dar. Chloride bilden mit Hg, Cd und anderen Schwermetallen lösliche Chlorokomplexe. Jedoch hat die Chloro-Komplexierung von Cd nach Ansicht von VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997 für Collembolen keine negativen Auswirkungen: Cd-Chlorokomplexe sind für sie offensichtlich nicht bioverfügbar.

Chlorokomplexe können mit solchen Komplexen, die an die Bodenpartikel sorbierbar sind, konkurrieren (GARCIA-MIRAGAYA und PAGE 1976, KINNIBURGH und JACKSON 1978). Bereits geringe Veränderungen in den einzelnen Fraktionen können die Komplexbildungsgleichgewichte in die eine oder andere Richtung verschieben und damit für eine Änderung der Sorptionsverhältnisse verantwortlich sein.

GERTH et al. (1981) stellten fest, daß im Gegensatz zu Cd bei Ni und Zn unter Chlorideinfluß keine starke Verminderung der Sorption an Bodenpartikel zu verzeichnen ist, während



die Höhe des pH-Wertes einen deutlichen Einfluß auf Sorption und Löslichkeit aller drei Schwermetalle hat. Cd weist eine besondere Affinität zur organischen Substanz des Bodens auf (GERTH und BRÜMMER 1979). Die Affinität der drei Metalle zur organischen Substanz des Bodens nimmt von Cd über Ni zu Zn ab. Dieses bestätigen z. B. die analytischen Daten für 202-GW. Während hier der Cd-Gehalt durch die Bodenbehandlung um ca. 95% reduziert wird, sind es bei Zn 87%.

Die Affinität von Cd, Ni und Zn zu eisenoxid- und silikatreichen Boden- und Tonfraktionen nimmt dagegen in der Reihenfolge  $Zn > Cd \geq Ni$  ab.

VAN GESTEL und HENSBERGEN (1997) entdeckten bei Untersuchungen in ‚artificial soil‘, daß die wasserlösliche Konzentration von Cd mit steigender Zn-Konzentration anstieg, während eine steigende Cd-Konzentration die wasserlösliche Konzentration von Zn nur geringfügig beeinflusste. Nach CHRISTENSEN (1987) kann dieses an einer starken Konkurrenz von Zn um die Bindungsplätze von Cd liegen. Ein anderer Grund könnte die Fähigkeit des Cadmiums sein, mit Chlorid wasserlösliche Chlorokomplexe zu bilden, während die Komplexbildung von Zn mit Chlorid im Verhältnis dazu in geringerem Maße stattfindet (ELRASHIDI und O'CONNOR 1982, cit. ex. VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997). Bei steigender  $ZnCl_2$ -Konzentration kann daher das Cd mit dem zusätzlichen Chlorid komplexieren (WOLT 1994, cit. ex. VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997).

Die Cd-Sorption bei einer Chloridkonzentration in Höhe von 0,1 mol/L kann dagegen aufgrund der Cd-Chloro-Komplexe um bis zu 75% reduziert werden. Ähnliches gilt vermutlich für Pb, da die Stabilitätskonstante für Pb-Chloro-Komplexe mit  $K_1 = 10^{1,6}$  ähnlich hoch ist wie die für Cd-Chloro-Komplexe mit  $K_1 = 10^{2,0}$ . Die Reihenfolge, nach der der Einfluß der Chloridkonzentration auf die Sorption mit steigender Stabilitätskonstante zunimmt, sieht damit wie folgt aus:  $Cd > Pb \gg Zn \geq Ni$  (GERTH et al. 1981). In den in dieser Arbeit durchgeführten Sorptionsversuchen wird Cd jedoch bei 202-IP9, 202-GW und 150-IP9 nachweislich sorbiert (Tab. 4.5 und 4.6). Die Verdünnung und Behandlung der Eluate mit Boden führt offensichtlich zu einer Verschiebung der Komplexbildungsgleichgewichte, wodurch bewirkt wird, daß Chlorokomplexe dissoziieren und Cd an den Boden sorbiert wird.

Bei höheren pH-Werten nimmt die Bildung der Chlorokomplexe von Cd ab. Grund dafür ist einerseits eine durch den höheren pH-Wert bedingte Zunahme hydroxylierter Oberflächenpositionen, die Bindungsstellen für Cd darstellen. Dieses gilt vor allem für Tonfraktionen mit stark pH-abhängigen Ladungen. Andererseits bilden sich bei höheren pH-Werten zunehmend Cd-Hydroxo-Komplexe, die wesentlich stärker an die Bodenmatrix sorbiert werden, als die Chlorokomplexe (HODGSON et al. 1964, HAHNE und KROONTJE, 1973). Das kann z. B. ein Grund für die Reduzierung der Toxizität bzw. Detoxifizierung von 158-GW, 157-GW, 153-IP9, 153-GW, 151-GW und 150 GW sein, da diese Eluate sehr hohe pH-Werte aufwei-

sen. Dieser Effekt kann jedoch auch wieder rückläufig sein, weil durch die Bodenbehandlung der pH-Wert deutlich reduziert wird.

Es ist denkbar, daß die Sorption deswegen vom pH-Wert abhängt, weil sich durch die Änderung des pH-Wertes auch die Speziation des Metalls in Lösung und die Beschaffenheit der Matrix ändern.

Aber auch noch bei pH-Werten im alkalischen Bereich kann der Einfluß der Chlorid-Konzentration zu einer deutlichen Reduzierung der Cd-Sorption führen. SPARK et al. (1995) stellten fest, daß die Eigenschaften des sorbierten Metalls hauptverantwortlich für die Festlegung des pH-Bereiches sind, in welchem eine Sorption stattfindet. Dennoch spielt auch die Beschaffenheit des Substrats eine signifikante Rolle.  $\text{MOH}^+$  stellt offensichtlich die dominante Spezies für die Sorption dar. Während der Effekt eines ‚Hintergrund-Elektrolyten‘ ( $\text{KNO}_3$  und  $\text{NaCl}$ ) auf die Sorption von  $\text{Cu (II)}$ ,  $\text{Zn (II)}$ , und  $\text{Co (II)}$  vom Substrat abhängt, wird die Sorption von  $\text{Cd (II)}$  bei einer erhöhten Ionenstärke unabhängig vom Substrat verringert.

Die Chlorokomplexe mit Ni und Zn weisen relativ niedrige Stabilitätskonstanten auf ( $K_{\text{MeCl}^+} = K_1$  für Ni:  $10^{-0,43}$ , für Zn:  $10^{-0,19}$ ; MATTIGOD und SPOSITO 1977). Ni-Chloro- und Zn-Chloro-Komplexe werden nach GERTH et al. (1981) offenbar erst bei Chlorid-Konzentrationen über 0,1 mol/L in größerer Menge gebildet. Für die IP-Eluate ist diese Größenordnung durchaus relevant und wird sogar zum Teil deutlich überschritten. So enthält das unverdünnte IP21-Eluat von CA 157 eine Chloridkonzentration von 316 g/L. Bei der höchsten in den Tests eingesetzten Konzentration entspricht das immer noch 15,8 g/L und damit 0,45 mol/L. Im Vergleich dazu weist Meerwasser eine Chloridkonzentration von ungefähr 0,56 mol/L auf und enthält eine beträchtliche Menge solcher Ni- und -Zn-Chloro-Komplexe (LU und CHEN 1977). Durch Verdünnung der Eluate kann es zur Dissoziation und Neubildung verschiedener Komplexe kommen und damit zu veränderter Bioverfügbarkeit und erhöhter oder erniedrigter Sorption.

VANHALA und AHTIAINEN (1994) extrahierten schwermetallhaltige Bodenproben mit dest. Wasser und betrachteten die so freigesetzten Schadstoffe als den bioverfügbaren Gehalt im Boden. Sie filtrierten über Cellulose-Acetat-Filter ab und fanden signifikante Korrelationen zwischen Metallgehalten in Bodenproben und in den daraus resultierenden Extrakten. Durch die Neutralisation dieser Extrakte jedoch änderten sie die Bioverfügbarkeit und Toxizität der Schwermetalle.

#### 4.5.3 Bindungsformen von Schwermetallen mit Bodenbestandteilen

Bei Untersuchung der Bindungsformen von Schwermetallen mit Bodenbestandteilen stellten ZEIEN und BRÜMMER (1989) mit Hilfe der sequentiellen Extraktion fest, daß Cd je nach Belastung und Bodenreaktion verstärkt in der mobilen und / oder leicht nachlieferbaren Frak-

tion und in Mangan-Oxiden auftritt. Mn findet sich hauptsächlich in Mangan-Oxiden, Zn hauptsächlich in der schlecht kristallinen und in der kristallinen Eisenoxid-Fraktion sowie je nach Bodenreaktion in der mobilen oder leicht nachlieferbaren Fraktion. Ni tritt in Eisenoxiden und in der Residualfraktion auf, Cu vor allem in organischen Substanzen und schlecht kristallinen Eisenoxiden. Pb findet sich in organischen Substanzen und Mangan-Oxiden bzw. in schlecht kristallinen Eisenoxiden.

Tonminerale in Böden sind häufig mit Metalloxiden und organischer Substanz ‚überzogen‘ (PEIJNENBURG et al. 1998). Diese ‚Überzüge‘ spielen eine wichtige Rolle beim Ionenaustausch. Eisen- und Manganoxide können bei der Bodensorption Schadstoffe speichern.

Die Sorption von Metallen aus einer Lösung ist laut LOGANATHAN und BURAU (1973) sowie BARROW et al. (1981) nicht unbedingt ein einzelner Prozess, an dem nur eine Spezies oder ein Gleichgewicht beteiligt ist.

Bei der Untersuchung der Sorption von Metallen in verdünnten Lösungen an amorphes Eisenhydroxid fanden DAVIES und LECKIE (1978), daß in den meisten Fällen mehr als eine stöchiometrische Oberflächenreaktion nötig war, um das Sorptionsverhalten zu erklären. Daher kann angenommen werden, daß mehr als eine Metall-Spezies sorbiert wird, oder daß mehr als ein Sorptionsplatz an der Oberfläche am Sorptionsvorgang beteiligt ist. Auch können beide Fälle gleichzeitig auftreten.

Huminstoffe sind für die Sorption laut HAIDER (1996) wichtiger als Tonminerale (zumindest bei Pflanzenschutzmitteln und PAKs). Kommt es zwischen Tonmineralen und Huminstoffen zur Aggregatbildung, entstehen Ton-Humus-Komplexe. Dabei werden die negativ geladenen Huminstoffe über mehrwertige Kationen ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ) an die negativen Tonoberflächen gebunden. Ton-Humus-Komplexe tragen wesentlich zu einer stabilen Strukturbildung des Bodens bei (HAIDER 1992) und verzögern den mikrobiellen Abbau der organischen Substanz. Die Bindung der Ton-Humus-Komplexe und daran sorbierter Partikel (das können auch Schadstoffe sein) ist oft so fest, daß sie auch durch stark oxidierende Substanzen kaum gelöst werden können (GISI et al. 1990).

#### 4.5.4 Bodenbehandlung

Während die Eluate 158-IP9, 157-IP9, 155-IP21 und 151-IP9 im Leuchtbakterientest vor Bodenbehandlung ohnehin nicht toxisch sind und 157-IP21 nur eine geringfügige Toxizität aufweist, werden die Schadstoffe in den Eluaten 202-GW (auf 1 mL/L verdünnt vor Bodenbehandlung), 158-IP21 und 158-GW (beide 100 mL/L), 153-IP21 (5 mL/L), 153-GW (10 mL/L), 151-GW sowie allen Eluaten von CA 150 (alle 100 mL/L) durch die Bodenbehandlung in eine für die Leuchtbakterien nicht mehr bioverfügbare Form überführt bzw. werden in dem Maße an die Bodenmatrix gebunden, daß die Eluate nicht mehr

leuchtbakterientoxisch sind. Außerdem wird durch die Bodenbehandlung der pH-Wert der Eluate zum Teil deutlich verändert. Die Werte liegen jetzt zwischen 5,2 und 8,3, so daß keine Effekte durch sehr hohe oder sehr niedrige pH-Werte mehr zu erwarten sind.

Ob es durch Kontakt mit Boden zu einer Detoxifizierung von Abfalleluaten kommt, hängt immer auch davon ab, wie stark das Eluat vor dem Kontakt während der Passage durch das Deckgebirge verdünnt wird. Sichtbar wird dieses z. B. an 202-GW und 153-IP21, die bei stärkerer Verdünnung vor der Bodenbehandlung nicht mehr leuchtbakterientoxisch wirken, während eine geringere Vorverdünnung die Toxizität nur verringert.

Für die ‚detoxifizierten‘ Eluate kann anhand der analytischen Ergebnisse (Tab. 4.5) verschiedenes deutlich gemacht werden:

Bei Verdünnung auf 1 mL/L enthält 202-GW noch 15,2 mg Cd/L, 0,58 mg Cu/L und 7,11 mg Zn/L. Die anderen Schwermetalle liegen unter der Nachweisgrenze. Nach Bodenbehandlung fällt auch Cu unter die Nachweisgrenze. Cd liegt bei 0,79 mg/L (Reduzierung um ca. 95%) und Zn bei 0,95 mg/L (Reduzierung um ca. 87%). Diese Ergebnisse der chemischen Analyse erklären also gut, warum 202-GW (1 mL/L) nach Bodenbehandlung nicht mehr leuchtbakterientoxisch ist. Die Sorptionskapazität reicht hier noch aus, um das Eluat für die Leuchtbakterien vollständig zu detoxifizieren. Bei 2 mL/L dagegen liegt der  $EC_{50}$  schon bei 2 mL/L (nach Extrapolation).

**Tab. 4.5.** Elementgehalte in ausgewählten Abfalleluaten nach Verdünnung und Bodenbehandlung. Elementgehalte, die über der Nachweisgrenze liegen, sind fettgedruckt. Analytik: M. Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik, TU Braunschweig

Element	202-IP9 1 mL/L	202-GW 1 mL/L	156-IP9 100 mL/L	155-IP9 100 mL/L	153-IP21 5 mL/L	153-IP9 100 mL/L	153-GW 10 mL/L	151-IP9 100 mL/L	150-IP9 100 mL/L
Elementgehalte in mg/L									
<b>Cd</b>	<b>2,36</b>	<b>0,79</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Co</b>	< 0,2	< 0,2	<b>0,39</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Fe</b>	< 0,2	< 0,2	<b>4,77</b>	<b>0,76</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Mn</b>	< 0,2	< 0,2	<b>0,42</b>	<b>0,24</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Pb</b>	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	<b>0,50</b>	< 0,5	< 0,5	< 0,5
<b>Sr</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	<b>0,27</b>	<b>5,70</b>	<b>0,34</b>	<b>1,77</b>	<b>1,85</b>
<b>Zn</b>	<b>1,68</b>	<b>0,95</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2

Daß bei den vorliegenden Schadstoffkonzentrationen die Sorptionskapazität des LUFA 2.2 Bodens mit einer relativ niedrigen Kationenaustauschkapazität von 9,7 mval/100 g bei einem Mischungsverhältnis von 1:10 (Boden : Lösung) überfordert wird, liegt auf der Hand. Im Vergleich dazu würde ein Braunerde (z. B. Löß/Bims, Vogelberg) mit einer Kationenaus-

tauschkapazität von 60 mval/100 g (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL 1989) deutlich stärkere Auswirkungen haben.

Trotz dieser sprunghaften Erschöpfung der Sorptionskapazität des LUFA 2.2-Bodens, die mit einem sprunghaften Anstieg der Toxizität einhergeht, wird dieser drastische Effekt im Col-lembolentest nicht deutlich, denn die dort gefundenen Ergebnisse stehen in keinem Verhältnis zur tatsächlichen Toxizität der CA 202-Eluate.

158-GW enthält nach Verdünnung auf 100 mL/L nur noch geringe Mengen an Molybdän (1,65 mg/L) und Sr (1,55 mg/L), weist aber dennoch einen  $EC_{50}$ -Wert von 38,5 mL/L auf. Daß trotz dieser geringen Schwermetallgehalte noch eine Toxizität vorliegt, muß an den enthaltenen Organika liegen, die durch die Bodenbehandlung dann jedoch sorbiert werden, so daß das Eluat nach dieser Behandlung nicht mehr toxisch ist. Hier bietet die chemische Analyse also keine Erklärung, da laut Analysenwerten bereits das verdünnte Eluat nicht mehr leucht-bakterientoxisch sein dürfte.

Im Eluat 153-GW lassen sich nach Bodenbehandlung nur noch 0,34 mg Sr/L nachweisen (theoretisch enthält 153-GW nach Verdünnung auf 10 mL/L vor Bodenbehandlung noch 2,05 mg Pb/L. Der  $EC_{50}$ -Wert des nicht mit Boden behandelten Eluats liegt bei 0,3 mL/L). Dieses Ergebnis paßt wiederum mit dem Leuchtbakterientest-Ergebnis und dem Ergebnis des Hemmtests nach OFFHAUS zusammen.

Obwohl der  $EC_{50}$ -Wert des Eluats 153-IP21 vor Bodenbehandlung im Leuchtbakterientest bei 0,5 mL/L liegt, konnten im auf 5 mL/L verdünnten Eluat keine Schwermetalle ermittelt werden (theoretisch müßten 2,1 mg Pb /L enthalten sein). Im Bodeneluat fanden sich nur 0,27 mg Sr/L, die mit großer Wahrscheinlichkeit aus dem Boden herausgelöst wurden. Für dieses Eluat kann chemisch-analytisch kein Erklärungsansatz für die sowohl im Leuchtbakterientest als auch im Hemmtest nach OFFHAUS vor Bodenbehandlung festgestellte Toxizität und anschließende Nicht-Toxizität gefunden werden.

150-IP9 enthält nur noch 1,85 mg Sr/L nach Bodenbehandlung. Vor Bodenbehandlung lagen bei Verdünnung auf 100 mL/L noch 0,32 mg Cd/L, 0,63 mg Pb/L und 1,5 mg Sr/L vor, so daß Cd und Pb bis unter die Nachweisgrenze sorbiert wurden. Hier kann das Leuchtbakterientest-Ergebnis mit Hilfe der chemischen Analyse plausibel gemacht werden, setzt man voraus, daß die geringen Schwermetall-Konzentrationen im verdünnten Eluat für den  $EC_{50}$ -Wert von 21,2 mL/L verantwortlich sind und nicht Inhaltsstoffe, die nicht detektiert wurden.

Bei den Eluaten, die durch die Bodenbehandlung nicht detoxifiziert werden, liegen entweder die Schadstoffe in zu hohen Konzentrationen vor (z. B. 202-IP9, 1 mL/L; 202-GW, 2 mL/L), was daran erkenntlich wird, daß die Toxizität durch den Boden reduziert wird, oder sie werden nicht erkennbar sorbiert (156-IP9 und 156-GW).

202-IP9 enthält vor Bodenbehandlung bei Verdünnung auf 1 mL/L theoretisch noch 16,1 mg Cd/L, 0,16 mg Cu/L, 1,61 mg Pb/L und 9,01 mg Zn/L. Nach Bodenbehandlung sind nur noch

2,36 mg Cd/L (Reduzierung um 87%) und 1,68 mg Zn/L (Reduzierung um 81%) nachweisbar – höhere Konzentrationen also als im 202-GW-Eluat. Die Ergebnisse im Leuchtbakterientest bestätigen dieses, und auch im Hemmtest nach OFFHAUS wird die Sorption deutlich, denn das auf 1 mL/L verdünnte Eluat ruft nach Bodenbehandlung nur noch eine 4%-Hemmung des mikrobiellen Sauerstoffverbrauchs hervor. Bei einer Eluatkonzentration von 10 mL/L reicht die Sorptionskapazität aber schon nicht mehr aus, um eine derart starke Verringerung der Toxizität zu bewirken. Es wäre zu erwarten, daß die Toxizität des Eluats bei höheren Konzentrationen weiter zunimmt, das ist aber bei 20 und 50 mL/L nicht der Fall. Möglicherweise halten sich hier die verbleibende Sorptionskapazität des Bodens, auch bedingt durch reversible Prozesse und Schwermetall-Toleranz der Abwasser-Mikroorganismen die Waage, so daß eine Art Pufferbereich besteht, in dem es über einen gewissen Konzentrationsbereich zu keiner drastischen Veränderung toxischer Effekte kommt.

156-IP9 enthält bei Verdünnung auf 10 mL/L 0,4 mg Co/L und 4,64 mg Fe/L. Durch die Bodenbehandlung nehmen diese Gehalte nicht ab: Co liegt danach bei 0,39 mg/L, Fe bei 4,77 mg/L. Aus dem Boden kommen noch 0,42 mg Mn/L hinzu. Ob die Toxizität, die im unbehandelten Eluat in der gleichen Größenordnung liegt, mit den (nicht analysierten) organischen Bestandteilen zusammenhängt, kann hier nicht geklärt werden, muß aber angenommen werden, da im mit Bentonit behandelten Eluat kein Co nachgewiesen werden kann, die Toxizität sich aber nicht nennenswert ändert (s. Kap. 4.5.6). Offensichtlich sind zumindest die leuchtbakterientoxischen Bestandteile von 156-IP9 nicht an den Boden sorbierbar.

Der Effekt, daß 155-IP21 als reines Eluat nicht toxisch ist, nach Bodenbehandlung aber einen  $EC_{50}$ -Wert von 83,7 mL/L aufweist, erklärt sich dadurch, daß die höchste getestete Konzentration beim reinen Eluat nur bei 25 mL/L lag.

Die Stimulation der Lichtemission durch 151-GW, 151-IP9, 150-GW und 150-IP9 ist ein Phänomen, das auch VANHALA und AHTIAINEN (1994) bei der Untersuchung unbelasteter Bodenextrakte fanden. Sie führen diese Stimulation auf leicht verfügbare Energiequellen zurück, die durch den Boden in die Testlösung gelangt sind. Diese können die Fitness der Testorganismen erhöhen. Hinzu kommt bei den UTD-Eluaten die Anwesenheit von Nährsalzen, die – werden sie in ihrer Wirkung nicht durch vorhandene Schadstoffe überdeckt – die Bedingungen für die Leuchtbakterien optimieren, da das Verdünnungswasser für den Test mit 2% NaCl nur eine für die Leuchtbakterien suboptimale Salzkonzentration enthält.

Vergleichbares gilt auch für die Abwasser-Mikroorganismen. Die Blindwerte der Bodenbehandlungen liegen z. B. deutlich über der üblichen Kontrolle. Bei den Blindwerten der Bodenbehandlung mit IP21 ist der Effekt sogar noch stärker, aufgrund größerer Mengen von Nährsalzen. Durch diese Nährsalze bzw. -stoffe kann außerdem die Widerstandsfähigkeit der Testorganismen gegenüber den Schadstoffen erhöht werden, was sich in höheren  $EC_{50}$ -

Werten und geringeren Hemmungen niederschlagen und eine geringere Toxizität der Testlösung vortäuschen kann.

Sowohl bei 205-IP9 als auch bei 202-IP9 verschiebt sich der mutagene Bereich nach Bodenbehandlung in Richtung höherer Konzentration. Auf den ersten Blick erscheint dieses Ergebnis unlogisch, denn wenn z. B. 100 mL bodenbehandeltes Eluat/L (205-IP9) mutagen wirken, müßte das unbehandelte Eluat/L in der gleichen Konzentration ebenso mutagen wirken. Da das unbehandelte Eluat aber einen höheren Schadstoffgehalt hat, als das bodenbehandelte, wird die Mutagenität durch die höhere Leuchtbakterientoxizität überlagert. D. h. also, daß 100 mL unbehandeltes 205-IP9/L (und ebenso 0,25 mL 202-IP9/L) zwar mutagen wären, die Leuchtbakterien aufgrund der hohen Toxizität aber so geschädigt werden, daß eine Gentoxizität nicht mehr erkennbar wird. Durch die Bodenbehandlung dagegen wird die Leuchtbakterientoxizität soweit herabgesetzt, daß gentoxische Effekte noch sichtbar werden. Ohne S9 ist 205-IP9 nach Bestimmung der optischen Dichte zwar in den getesteten Konzentrationen nicht erkennbar leuchtbakterientoxisch, es können aber subletale Effekte vorliegen, die noch keine Minderung des Bakterienwachstums zur Folge haben, wohl aber eine Minderung der Lumineszenz. 202-IP9 ist ohne S9 und ohne Bodeneinfluß ab 1 mL/L leuchtbakterientoxisch, ohne S9 und mit Bodeneinfluß ab 2 mL/L. Auch hier können subletale Wirkungen bei niedrigeren Konzentrationen vorliegen.

Der Versuch mit dem Verdünnungswasser (s. Kap. 2.2.4 und 3.4.3.1) zeigt, daß die durch den Boden verursachte Sorption von Schadstoffen aus 202-IP9 nicht durch wasserlösliche Bestandteile wie z. B. Fulvosäuren (SCHEFFER und SCHACHTSCHABEL 1989) verursacht wird.

Bei allen durchgeführten Sorptionsversuchen, bei denen vor der Messung eine Filtration durchgeführt wurde, stellt sich die Frage, ob eine Reduzierung der Toxizität nicht auch durch die Sorption von Schadstoffen an die verwendeten Cellulose-Acetate-Filter bewirkt worden sein könnte. Um einen solchen Effekt abschätzen zu können, wurde eine vergleichende Untersuchung von dekantierten und filtrierten Bodenbehandlungen im Hemmtest nach OFFHAUS durchgeführt. Dabei konnten keine Unterschiede im Sauerstoffverbrauch der Abwasser-Mikroorganismen festgestellt werden. Analytische Untersuchungen in Form einer Messung einiger Filterpapiere nach Filtration der Bodenbehandlungen bestätigte dieses Ergebnis (MÜLLER, mündliche Mitteilung). Auch LAMBOLEZ (1994) filtrierten mit den gleichen Filtern.

#### 4.5.5 Kaskadenbehandlung

Bei auf 1 mL/L vorverdünntem 202-IP9 nimmt der Cd-Gehalt von 2,36 mg/L (1. Kaskade) über 4,03 mg/L (2. Kaskade) auf 6,14 mg/L (3. Kaskade) deutlich zu, ebenfalls der Zn-Gehalt von 1,68 mg/L über 2,33 mg/L auf 3,19 mg/L (Tab. 4.6). Parallel dazu nimmt die Leuchtbak-

terientoxizität von Kaskadenstufe zu Kaskadenstufe zu. Bei einer Ausgangskonzentration von 10 mL/L dagegen liegen Cd (241 – 281 mg/L), Mn (0,92 – 1,18 mg/L), Ni (0,55 – 0,58 mg/L) und Zn (92 – 102 mg/L) in ähnlichen Konzentrationen in allen drei Kaskaden vor (Tab. 4.5). Der Schadstoffgehalt ist hier für eine im Leuchtbakterientest sichtbare Sorption also eindeutig zu hoch.

Die Sorptionskapazität des LUFA 2.2 Bodens wird mit steigender Behandlungsstufe (Kaskadenstufe) zunehmend erschöpft. Gleichzeitig nimmt die Toxizität des Filtrats zu, wobei angenommen werden kann, daß für die Toxizität dieser beiden CA 202-Eluate sowohl an den Boden sorbierbare als auch an den Boden nicht-sorbierbare Schadstoffe verantwortlich sind. Diese Annahme stützt sich auf die Tatsache, daß das Eluat nach der ersten Bodenbehandlung zwar weniger toxisch ist als das reine Eluat, aber mit 0,24 mL/L noch immer eine sehr hohe Toxizität aufweist. Würden schon bei der ersten Behandlungsstufe nicht ausreichend Sorptionsplätze zur Verfügung stehen, müßte die Toxizität in der zweiten Stufe bereits der des reinen Eluats gleichen, wenn genügend Zeit und ausreichend Kontaktmöglichkeiten des Eluats mit den Sorptionsplätzen bestehen und die bereits sorbierten Schadstoffe zumindest temporär eine feste Bindung mit dem Substrat eingegangen sind. Die Toxizität kommt aber weder in der zweiten noch in der dritten Stufe in den  $EC_{50}$ -Bereich des reinen Eluats. Ein möglicher Erklärungsansatz dafür wäre jedoch auch, daß die Sorption der Schadstoffe einer hohen Reversibilität unterliegt, die dazu führt, daß nicht permanent alle Sorptionsplätze besetzt sind, bei Bodenbehandlung von Stufe zu Stufe aber immer mehr ‚Anwärter‘ für diese Plätze hinzukommen, so daß die Toxizität zwar immer noch unterhalb der des reinen Eluats liegt, aber doch deutlich ansteigt. Auch die Bildung von Komplexen (Kap. 4.5.2) und Ausfällung von Salzen kann für die vorliegenden Änderungen der Toxizität verantwortlich sein (z. B. VAN GESTEL und HENSBERGEN 1997).

153-IP21 (50 mL/L) zeigt keine deutliche Zunahme der Schadstoffe von der ersten zur vierten Kaskade (Cd: 0,69, 0,73, 0,64, 0,72 mg/L, Zn: 1,7, 1,6, 1,0, 1,0 mg/L). Dieses Ergebnis läuft mit den Leuchtbakterientest-Ergebnissen konform.

153-GW enthält in allen vier Kaskaden keine elementanalytisch nachgewiesenen Schadstoffe. Das Leuchtbakterientest-Ergebnis ist damit plausibel. Die Stimulation ab der zweiten Kaskade hängt, wie oben bereits beschrieben, offensichtlich mit Bodenbestandteilen und Nährsalzen zusammen.

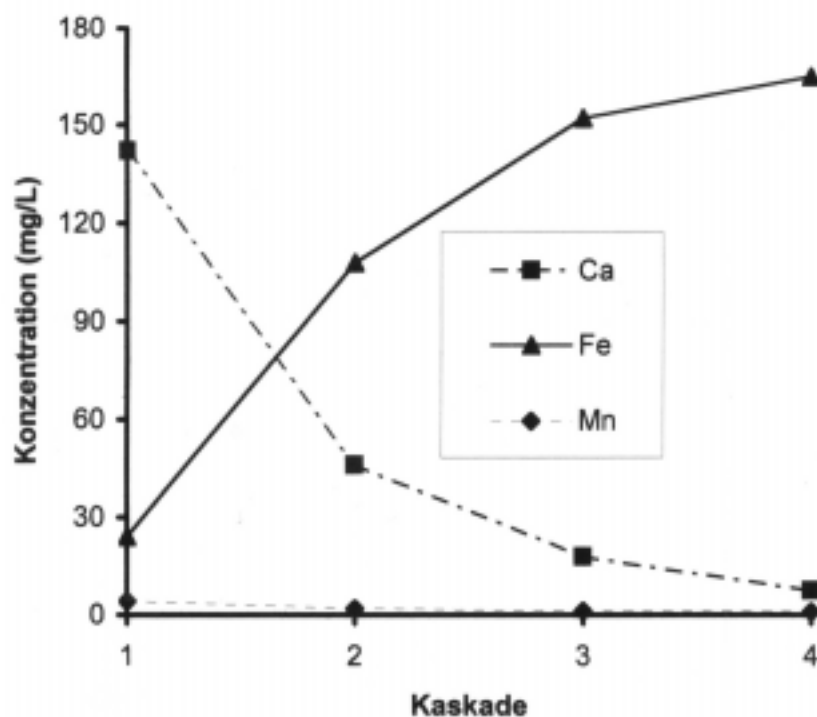
Im Hemmtest nach OFFHAUS dagegen zeigt 153-IP21 toxische Effekte in Bezug auf die Abwasser-Mikroorganismen, diese laufen aber mit den IP21-Ansätzen parallel. Sie sind damit eindeutig auf die von Kaskade zu Kaskade ansteigenden Salzkonzentrationen zurückzuführen. Für 153-GW ist das Ergebnis vergleichbar mit dem Leuchtbakterientest-Ergebnis, da hier gegenüber den beiden anderen Testlösungen ebenfalls eine Stimulation festgestellt werden kann.



**Tab. 4.6.** Kaskadenbehandlungen mit 202-IP9 und 153-IP21. Elementgehalte in mg/L. Elementgehalte, die über der Nachweisgrenze liegen, sind fettgedruckt. Analytik: M. Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik, TU Braunschweig

Element	202-IP9 1 mL/L			202-IP9 10 mL/L			153-IP21 50 mL/L			
	1.	2.	3.	1.	2.	3.	1.	2.	3.	4.
<b>Cd</b>	<b>2,36</b>	<b>4,03</b>	<b>6,14</b>	<b>281</b>	<b>241</b>	<b>250</b>	<b>0,69</b>	<b>0,73</b>	<b>0,64</b>	<b>0,72</b>
<b>Fe</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Mn</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	<b>1,18</b>	<b>0,92</b>	<b>0,95</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Ni</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	<b>0,58</b>	<b>0,55</b>	<b>0,61</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2
<b>Pb</b>	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	<b>0,59</b>	<b>0,58</b>	<b>0,67</b>	< 0,5	< 0,5
<b>Sr</b>	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	<b>0,68</b>	<b>0,23</b>	< 0,2	< 0,2
<b>Zn</b>	<b>1,68</b>	<b>2,33</b>	<b>3,19</b>	<b>102</b>	<b>91,9</b>	<b>99,3</b>	<b>1,73</b>	<b>1,59</b>	<b>0,95</b>	<b>1,02</b>

Anhand der Kaskadenversuche im Hemmtest nach OFFHAUS kann für 204-IP9 empirisch eine Sorptionskinetik aufgezeigt werden. Abb. 4.3 zeigt die Zunahme von Fe von Kaskadenstufe zu Kaskadenstufe, die Abnahme von Ca, welches durch die Salzlauge aus dem Boden ausgewaschen wird und dadurch in seiner Konzentration von Stufe zu Stufe abnimmt, und die Abnahme von Mn. Alle anderen Elemente bleiben über die vier Kaskadenstufen im gleichen Bereich bzw. unter der Nachweisgrenze.



**Abb. 4.3.** Chemische Analyse (M. Müller, Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik der TU Braunschweig) der Kaskadeneluats von 204-IP9. Ergebnisse der Calcium-, Eisen- und Mangan-Gehalte in den vier Kaskadenstufen.

#### 4.5.6 Sorptionsversuche mit Humussäure-Natriumsalz und Tonmineralen

Sorptive Wirkungen von Bentonit können sowohl mit Hilfe der chemischen Analyse als auch mit Hilfe der Tests festgestellt werden. 151-IP9, auf 100 mL/L verdünnt und mit Bentonit versetzt, enthält kein Cd (vorher 0,25 mg/L) und kein Pb (vorher 0,55 mg/L) mehr, sondern nur 5,0 mg Sr/L. Dieses stimmt mit den Ergebnissen des Leuchtbakterientests überein.

Auch 153-IP21 (5 mL/L) enthält nur noch 0,5 mg Sr/L, alle anderen Schwermetalle liegen unter der Nachweisgrenze. Damit erklärt sich eindeutig das Verschwinden der Leuchtbakterientoxizität. Im Hemmtest nach OFFHAUS kann ein solcher Effekt nicht beobachtet werden, was damit zusammenhängt, daß eine wesentlich höhere Eluatkonzentration (50 mL/L) eingesetzt wurde. Die eingesetzten Mengen Bentonit (5 – 5000 mg/L) reichen daher nicht aus, um eine sichtbare Schadstoffmenge zu sorbieren.

156-IP9 (100 mL/L) enthielt vor Versetzen mit Bentonit 0,44 mg Co/L, danach ist jedoch keines mehr nachweisbar. Dieses führt aber offensichtlich zu keiner Änderung der Toxizität. Hier müssen hauptsächlich die organischen Bestandteile die Toxizität verursachen.

202-IP9 (1 mL/L) enthält nach Versetzen mit Bentonit noch 3,69 mg Cd/L und 1,25 mg Zn/L (im Vergleich zur Bodenbehandlung: 2,82 mg Cd/L und 2,22 mg Zn/L). Diese Verminderung der Schadstoffe durch das Bentonit schlägt sich auch im Leuchtbakterientest-Ergebnis nieder. Die höhere Toxizität des mit Boden behandelten Eluats gegenüber dem Bentonit-Eluat hängt vermutlich mit dem höheren Zn-Gehalt in ersterem zusammen.

Die im Sapromatversuch mit 202-IP9 untersuchte Sorptionskapazität von Humussäure und Tonmineralen bestätigt die Feststellung, daß Huminstoffe stärkere Sorbentien sind als Tonminerale (HAIDER 1996). Für die Tonminerale allein ist die Schadstoffkonzentration in auf 5 mL/L verdünntem 202-IP9-Eluat noch zu konzentriert, um eine sichtbare Sorption der Schadstoffe zu bewirken. Zudem sind möglicherweise die Chlorokomplexe mit den in 202-IP9 enthaltenen Schadstoffen stabiler als die Bindung dieser Schadstoffe (Schwermetalle) an die Tonminerale. Die Bindung an organische Bestandteile im Boden, also z. B. Huminstoffe, weist hingegen eine höhere Stabilitätskonstante auf, so daß hier, auch durch eine weitergehende Bindung dieser organischen Bestandteile an Tonminerale (Ton-Humus-Komplexe), eine stärkere Sorption zu verzeichnen ist. Das erklärt den starken Sorptionseffekt durch die Humussäure und den noch stärkeren Effekt durch den kombinierten Einsatz von Humussäure und Bentonit. Die Unterschiede in der Verminderung der Toxizität durch Bentonit und Montmorillonit hängt sehr wahrscheinlich mit den deutlich differierenden pH-Werten und damit unterschiedlichen Ladungsverhältnissen zusammen. Der pH-Wert im Bentonit/Humussäure-Ansatz liegt bei 8,1 derjenige des Montmorillonit-Ansatzes bei pH 5,4.

#### 4.6 Übertragbarkeit von Laborversuchen auf Freilandbedingungen

Abfalleluate in der Form, wie sie hier untersucht werden, kommen im Freiland normalerweise nicht vor, denn die Gefahr einer Kontamination der Biosphäre mit derartigen Schadstoffen droht nur bei Eintreten des ‚worst case‘. Im Gegensatz zu Pestiziden, die im Freiland eingesetzt werden und deshalb dort auch für Versuche aufgebracht werden können, sollten Abfalleluate nicht absichtlich ins Freiland verbracht werden. Deshalb können mit ihnen nur Laborversuche, allenfalls Halb-Freilandversuche in vom Umfeld abgeschlossenen Lysimetern, durchgeführt werden.

Dabei ist aber zu bedenken, daß die Exposition von Organismen mit den Abfalleluaten unter Freilandbedingungen anders verlaufen würde, als im Labor, da eine exakte Simulation der Exposition nicht möglich ist.

Laborversuche werden im allgemeinen unter konstanten, mehr oder weniger idealen Bedingungen in einem definierten Substrat durchgeführt. Im Freiland dagegen können Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Bodenfeuchte, Art und Umfang des Nahrungsangebotes stark schwanken. So können z. B. Wassergehalte nur im Laborversuch immer konstant gehalten werden, während sie dagegen im Freiland nicht oder kaum beeinflußt werden und damit zu verschiedenen Reaktionen führen können, wie die Versuche mit *Folsomia candida* und verschiedenen Wassergehalten (s. Kap. 3.6.1 und 4.3.5) zeigen. VAN GESTEL und VAN DIEPEN (1997) untersuchten diese Problematik im Hinblick auf die Wirkung von Cd auf *Folsomia candida*. Während ein höherer Wassergehalt zwar die Reproduktionsrate signifikant erhöhte, wurde die Empfindlichkeit von *F. candida* gegenüber Cd durch unterschiedliche Wassergehalte nicht oder nur geringfügig beeinflußt.

Substrat und Umweltbedingungen sind schwer genau zu definieren. Bioverfügbarkeit der Chemikalien und organismenbezogene Fakten können völlig unterschiedlich sein. Adaptierung und ökologische Kompensation werden im Laborversuch im allgemeinen nicht berücksichtigt bzw. können nicht berücksichtigt werden (VAN STRAALen und DENNEMAN 1989). Substrateigenschaften und Aufbringung der Testsubstanzen sowie Veränderungen der Testsubstanzen (Metabolisierung etc.) müssen bei einer Übertragung von Labor- auf Freilandgegebenheiten berücksichtigt werden (LA POINT et al. 1989), was große Probleme bereiten kann, da es unmöglich ist, alle im Freiland vorliegenden Parameter zu erfassen. Zur Erzielung eines biologischen Effekts genügt in der Natur oftmals eine geringere Schadstoffkonzentration als unter standardisierten Laborbedingungen ermittelt.

Wie ein Kontakt von Schadstoffen mit Substrat und Testorganismen verläuft, kann sehr variabel sein und hängt von vielen Faktoren ab. In den hier durchgeführten Experimenten wird von einem direkten, unmittelbaren und sofortigen Kontakt der in verschiedenen Verdünnungsstufen eingesetzten Eluate mit dem Boden ausgegangen. Der Einfluß des über der

UTD befindlichen Deckgebirges wird nicht berücksichtigt. Auch wird nur ein Boden stellvertretend eingesetzt. Bei anderen Böden, z. B. mit anderem pH-Wert, anderen Konzentrationen des organischen Kohlenstoffgehalts, anderem Gehalt an Tonmineralen etc. können die Effekte völlig anders ausfallen (SMIT und VAN GESTEL 1998). Da hier aber in erster Linie eine Eignungsprüfung von Tests für UTD relevante Abfalleluate durchgeführt werden sollte, und es nicht um einen Vergleich der Sorptionskapazität verschiedener Böden ging, wurden nur ein Bodentyp sowie verschiedene Tonminerale und Humussäure betrachtet.

Alle Labormodelle („Modellökosysteme“), auch diejenigen, die repräsentative Indikatoren aus Ökosystemen verwenden, entwickeln ihre eigene Dynamik, ihr Wirklichkeitsbezug ist somit stark eingeschränkt (KORTE 1992). Trotz dieser Probleme bilden Laboruntersuchungen die Grundlage für die ökologische Risikoabschätzung von Schadstoffen (z. B. CALOW 1993, LOKKE und VAN GESTEL 1998). Die aus den Laborversuchen hervorgehenden Ergebnisse können als Grundlage für Modellierungen verwendet werden und so eine höhere Aussagekraft für Freilandbedingungen gewinnen. Werden die Werte der Laborergebnisse mit einem breiteren Sicherheitsspielraum auf Freilandbedingungen übertragen, ist eine gute Risikoabschätzung möglich.

#### **4.7 Konsequenzen für die Lagerung der den Eluaten zugrundeliegenden Abfälle**

Die Ergebnisse dieser Arbeit verdeutlichen, daß es unerlässlich ist, UTD-relevante Abfälle vor der Ablagerung einer Beurteilung zu unterziehen. Ein Abfall kann – abgelagert im salinaren Milieu – eine hohe Gefahr bedeuten, im nicht-salinaren Milieu dagegen weniger toxische Reaktionen hervorrufen, und umgekehrt. Es ist also wichtig, vor der Einlagerung von Abfällen zu wissen, welche Wirkungen bei Laugen- oder Grundwasserzutritt zu erwarten sind, da Schadstoffe durchaus auch in größeren Mengen aus diesen Abfällen eluiert werden können. Einige Abfälle enthalten hohe Gehalte eluierbarer Schwermetalle, die im Eluat auch bei hohen Verdünnungen noch eine starke Toxizität aufweisen. Solche Abfälle können, werden sie nicht sachgemäß abgelagert, ein Langzeitrisiko für die Umwelt darstellen, wenn in einem ‚worst case‘ der Salzstock geflutet wird. Die Untersuchungen von KAMPKE-THIEL et al. (1994) und DEVARE und BAHADIR (1994) bestätigen dieses ebenfalls.

Problematisch bei einer Risikoabschätzung ist die Inhomogenität von Abfällen. Die Zusammensetzung ein und derselben Abfallart kann von Charge zu Charge sehr unterschiedlich sein. Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse für die Eluate der verschiedenen Abfallarten können aber als Richtwerte betrachtet werden, d. h., daß z. B. für Elektro-Filterstäube aus der Sonderabfallverbrennung mit wesentlich höheren Toxizitäten zu rechnen ist als für Aschen und Schlacken aus der Hausmüllverbrennung.

Prinzipiell können aufgrund der hier vorliegenden Ergebnisse folgende Vorschläge zur Lagerung der verschiedenen Abfallarten gemacht werden:

Von **CA 205** geht bei Lagerung im Salzstock eine hohe Gefahr aus, da das Salzlaugeneluat hoch leuchtbakterientoxisch und mutagen wirkt. Die Mutagenität bleibt auch nach der Bodenbehandlung erhalten, so daß von einer Detoxifizierung des Eluats bei Eindringen in die Biosphäre nicht ausgegangen werden kann. Da nur das IP9-Eluat von diesem Abfall vorliegt, kann nicht beurteilt werden, wie stark das Gefahrenpotential eines Grundwassereluats wäre. Bei Lagerung des Abfalls im Salzstock ist in jedem Fall eine Verglasung, ein Einschluß in Bitumen oder eine andere Art der Inertisierung notwendig (s. dazu auch BRASSER et al. 1998), um die Entstehung solcher toxischer Eluate auszuschließen. Da eine solche Inertisierung mit hohen Kosten verbunden ist, sollte vorher immer sorgfältig abgewogen werden, ob eine derartige Maßnahme notwendig ist oder nicht.

Eine Beurteilung von **CA 204** ist aufgrund der nur in geringem Umfang vorliegenden Ergebnisse schwierig. Da das IP9-Eluat aber im Hemmtest nach OFFHAUS hoch toxisch wirkt und auch durch die Bodenbehandlung nicht detoxifiziert wird, muß von einer akuten Gefahr durch die Abfalleluat, schon allein aufgrund des extrem niedrigen pH-Wertes, ausgegangen werden. Die Ablagerung darf keinesfalls in Metallbehältern erfolgen, da hier mit einer starken Korrosion des Metalls gerechnet werden muß. Eine Inertisierung des Abfalls vor Ablagerung ist auch hier zu empfehlen.

Von allen untersuchten Abfalleluaten geht die größte Gefahr von den Eluaten mit **CA 202** aus. Diese Eluate sind hoch toxisch und schon in sehr geringen Konzentrationen mutagen. Die Ablagerung dieses Abfalls stellt für den Entsorger daher ein großes Problem dar. Eine Inertisierung des Abfalls vor Ablagerung ist hier unerlässlich. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Elutionsmitteln sind gering. Eine Ablagerung im Salzstock ist aber aufgrund des Abschlusses vom Grundwasser und der etwas geringeren Toxizität des IP21-Eluates als sicherer zu bewerten.

Die Eluate des Abfalls **CA 158** stellen nach den hier vorliegenden Ergebnissen keine akute Gefahr für die Umwelt dar. Sie sind entweder nicht toxisch oder ihre Toxizität ist gering. Eine Mutagenität liegt zumindest für das Grundwassereluat (die anderen Eluat wurden nicht untersucht) nicht vor. Insgesamt ist das Grundwassereluat am geringsten toxisch, so daß eine Ablagerung in Tongruben oder anderen nicht-salinaren UTDs sinnvoll wäre. Auch BRASSER et al. (1998; Teilergebnis WUNDRAM et al.) plädieren für eine Einlagerung im nicht-salinaren Milieu. Eine mit hohen Kosten verbundene vorherige Behandlung des Abfalls ist nicht notwendig, da die ohnehin nur geringfügig toxischen Eluate durch die Behandlung mit Boden komplett detoxifiziert werden.

Der Abfall **CA 157** sollte dagegen nicht in Tongruben oder anderen nicht-salinaren UTDs gelagert werden, da das Grundwassereluat mutagen und deutlich toxisch wirkt. Das IP9-

Eluat ist demgegenüber weder im Leuchtbakterientest noch im Hemmtest nach OFFHAUS toxisch, und auch das IP21-Eluat weist nur eine sehr geringfügige Toxizität auf, die außerdem durch Bodenbehandlung eliminiert wird. Zwar kann über die Mutagenität dieser Eluate keine Aussage gemacht werden, im Vergleich zum Grundwassereluat ist aber die Ablagerung im salinaren Milieu aufgrund der anderen Ergebnisse die sicherere Alternative. BRASSER et al. (1998, Teilergebnis WUNDRAM et al.) dagegen halten eine Ablagerung im nicht-salinen Milieu für ratsamer, stufen die Eluate aber insgesamt als nicht akut gefährlich ein, so daß hier ein gewisser Ermessensspielraum besteht.

Die Ergebnisse des Leuchtbakterientests und des Hemmtests nach OFFHAUS weisen zunächst auf eine mittlere Gefährdung der Biosphäre durch die Eluate von **CA 156** hin. Durch ihre Mutagenität jedoch wird das Gefährdungspotential deutlich erhöht. Hier kann keine Empfehlung gegeben werden, ob eine salinare oder nicht-salinare Ablagerung erfolgen sollte, da sich die Ergebnisse für beide Eluat-Typen ungefähr entsprechen. Im Gegensatz dazu empfehlen BRASSER et al. (1998, Teilergebnis WUNDRAM et al.) eine Einlagerung im Salzstock. Eine Sorption der Schadstoffe fand zumindest unter Laborbedingungen nicht statt, so daß mit einer Detoxifizierung der Eluate beim Eintritt in die Biosphäre nicht zu rechnen ist. Eine Vorbehandlung des Abfalls in Form einer Inertisierung wäre hier also ratsam.

Die Eluate des Abfalls **CA 155** sind alle mutagen, so daß von diesem Abfall allein schon deshalb eine akute Gefahr ausgeht. Im Leuchtbakterientest und im Hemmtest nach OFFHAUS ist das IP9-Eluat gegenüber dem GW-Eluat weniger toxisch, das IP21-Eluat ist sogar überhaupt nicht toxisch, so daß eine Ablagerung im salinen Milieu weniger umweltgefährdend ist, als im nicht-salinen. BRASSER et al. (1998, Teilergebnis WUNDRAM et al.) bestätigen dieses. Eine Detoxifizierung durch Bodenbehandlung findet nicht statt. Hier wäre, wie im Falle von CA 156, eine Inertisierung gleichermaßen ratsam.

Der Abfall **CA 153** dagegen sollte möglichst nicht im salinen Milieu abgelagert werden, da die Salzlaugeneluate mutagen wirken, das Grundwassereluat dagegen nicht. Auch die Ergebnisse der Phytotoxizitätstests unterstützen diese Empfehlung (BRASSER et al. 1998, Teilergebnis WUNDRAM et al.). Das Gefährdungspotential der Eluate ist bei Eintritt in die Biosphäre zunächst gering, da eine hohe Sorption der Schadstoffe stattfindet. Es ist jedoch zu erwarten, daß es bei Remobilisierung der Schadstoffe, Erschöpfung der Sorptionsplätze oder Mangel an Wechselwirkungen mit (natürlichen) Sorbentien stark ansteigen wird, da es ohne Bodenbehandlung sehr hohe Toxizitäten in Leuchtbakterientest und Hemmtest nach OFFHAUS aufweist. Eine Vorbehandlung der Abfälle ist daher zu empfehlen.

Für die Abfälle **CA 151** und **CA 150** ist eine Lagerung im salinen Milieu gegenüber einer Lagerung im nicht-salinen Milieu vorzuziehen. Bei beiden Abfällen sind die Eluate mit den Salzlaugen deutlich weniger toxisch als die Grundwassereluate, 151-IP9 ist sogar überhaupt nicht toxisch. BRASSER et al. (1998, Teilergebnis WUNDRAM et al.) dagegen halten eine

Einlagerung im Salzstock für weniger ratsam, kommen aber zu dem Ergebnis, daß von den Eluaten beider Abfälle keine akute Gefahr ausgeht. Eine Inertisierung des Abfallmaterials ist bei Ablagerung im salinaren Milieu anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht zwingend notwendig. Zur endgültigen Beurteilung wäre hier aber eine Untersuchung der – im Prinzip nicht zu erwartenden - Mutagenität der Abfalleluate ratsam, um eine größere Sicherheit zu gewährleisten.

#### 4.8 Ausblick

Die ökotoxikologische Relevanz von Langzeitszenarien und Retardierungseffekten durch die Bodenmatrix konnte in dieser Arbeit zunächst nur ansatzweise berücksichtigt werden. Die Betrachtung chronischer Effekte der Schadstofflösungen, auch im Zusammenhang mit schrittweiser Neutralisation, Anreicherung von Schwermetallen *in situ*, gekoppelt mit Auswaschung von Salzen, sollte auf der Basis der hier gemachten Erfahrungen eine zentrale Stellung in einer als notwendig anzusehenden Weiterführung der Untersuchungen einnehmen.

Um eventuelle spezifische Effekte der Schadstoffe auf die Proteinbiosynthese zu untersuchen, sollte ein sog. Langzeittest (24 h) mit Leuchtbakterien durchgeführt werden (s. Kap. 4.3.1 und BACKHAUS et al. 1997). Damit kann festgestellt werden, ob die Leuchtbakterientoxizität der Eluate mit hohen  $EC_{50}$ -Werten auch auf Dauer eher gering ist, oder ob stärkere toxische Wirkungen erst bei einer längeren Einwirkzeit auftreten.

Die im Rahmen des Projektes für geeignet befundenen Tests erfolgen im aquatischen Milieu (verdünnte Abfalleluate, Boden-Abfall-Eluate, Nährlösungen und Hydrokulturen für Phytotoxizitätstests). Die erprobten Bodentests (Regenwürmer, Collembolen, Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität) liefern dagegen keine befriedigenden Ergebnisse. Grund dafür ist, daß der Boden versuchsbedingt nur bis zu seiner 50%-igen Wasserhaltekapazität mit Testlösung angefeuchtet wird. Die vom Boden ausgehenden Sorptions- und Matrixeffekte reduzieren bei diesem Mischungsverhältnis die Toxizität des Gesamttestsubstrats drastisch. Bei einer stärkeren Anfeuchtung dagegen würde der Boden für die verwendeten Testorganismen zu feucht werden, und die Organismen würden schon allein durch die zu hohe Feuchtigkeit geschädigt. Läßt man den Feuchtigkeitsüberschuß dagegen eindampfen, käme es zu einer zu starken Anreicherung der Salze und damit wieder zur Überlagerung der Schwermetalleffekte durch Salzeffekte. Hier könnte mit Hilfe von Säulenversuchen, unter Anreicherung der Schadstoffe im Testsubstrat (Boden) und zugleich einer Auswaschung der Salze und damit Elimination der durch sie bedingten Störungen, eine Möglichkeit zur Lösung dieses Problems gefunden werden. Dieses würde die bereits für geeignet befundenen aquatischen Tests mit Bodensuspensionen (2.2.1 – 2.2.4) sinnvoll ergänzen.

## 5. Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Eignung verschiedener mikrobiologischer und zoologischer Toxizitäts-Tests für die Untersuchung Untertagedeponie (UTD)-relevanter Abfalleluate ermittelt. Eine Entstehung solcher Eluate ist möglich, wenn in einem sogenannten ‚worst case‘ eine UTD geflutet wird. Gelangen sie in die Biosphäre, stellen sie ein Gefährdungspotential für die Umwelt dar. Mit Hilfe der Tests soll es möglich sein, dieses Umweltrisiko abzuschätzen und Empfehlungen zu geben, in welcher Form eine Ablagerung der jeweiligen Abfälle im Hinblick auf eine möglichst hohe Langzeitsicherheit für Mensch und Umwelt erfolgen sollte.

Die zu testenden Abfalleluate wurden halb-synthetisch von der Gesellschaft für Anlagen- und Reaktorsicherheit (GRS, Braunschweig) aus Original-Abfällen und drei verschiedenen Elutionsmitteln hergestellt. Zwei dieser Elutionsmittel wurden auf der Basis von Analysendaten geologisch-relevanter Salzlaugen synthetisch hergestellt, bei dem dritten Elutionsmittel handelte es sich um ein Original-Grundwasser. Die entstandenen Eluate stellen komplexe Schadstoffgemische mit z. T. hohen Schwermetall-Gehalten dar.

Erprobt wurden der Leuchtbakterientest MICROTOX™ mit *Vibrio fischeri*, der Gentoxizitätstest MUTATOX™ mit einer nichtleuchtenden Mutante von *V. fischeri*, der Hemmtest nach OFFHAUS mit undefinierten Abwasser-Mikroorganismen, die Bestimmung der Dehydrogenase-Aktivität (DHA) mit undefinierten Boden-Mikroorganismen, der Regenwurmtest mit *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris* und *Lumbricus rubellus*, der Reproduktionstest mit den Collembolenarten *Folsomia candida*, *Sinella coeca* und *Isotoma viridis*, der Kontakt-Papier-Test mit den Collembolenarten *F. candida*, *S. coeca* und *Ceratophysella denticulata*, und ein Test mit dem Salinenkrebs *Artemia salina*.

Während sich MICROTOX™-, MUTATOX™- und Hemmtest nach OFFHAUS als geeignet erwiesen und differenzierte Ergebnisse für die verschiedenen Eluate lieferten, führten im Regenwurm- und im Reproduktionstest mit Collembolen die hohen Salzgehalte der Abfalleluate zu starken Beeinträchtigungen der Tiere und ließen keine Differenzierung von schadstofffreien Salzlaugen und Abfalleluaten zu. Eine hohe Adsorption von Schadstoffen durch den in diesen beiden Tests verwendeten LUFA 2.2 Boden sowie eine eventuelle Änderung der Bioverfügbarkeit von Schadstoffen trugen außerdem dazu bei, daß für die Abfalleluate keine differenzierten Aussagen möglich waren.

Die Wirkung der Salze wurde im Collembolentest näher untersucht. Dabei stellte sich heraus, daß auch das Anion eine große Rolle bei der Toxizität von Salzen spielt. Chloride und Nitrate wirken in der Regel deutlich toxischer als Sulfate. Bei der Untersuchung von Schwermetallen sollten daher möglichst andere Salze als Chloride oder Nitrate getestet werden, oder zumindest Tests mit anderen Salzen als Referenz herangezogen werden.



Der Kontakt-Papier-Test mit Collembolen und die Bestimmung der DHA waren für UTD-relevante Abfalleluate nicht geeignet, der Test mit *Artemia salina* konnte aufgrund Platz- und Gerätemangels nur in geringem Umfang erprobt werden, kann aber prinzipiell als geeignet eingestuft werden.

In Sorptionsversuchen, in denen die Abfalleluate mit LUFA 2.2 Boden sowie Humussäure-Natriumsalz, Bentonit und Montmorillonit versetzt wurden, konnte bei fast allen Eluaten eine deutliche Verringerung der Toxizität unter Anwendung des MICROTOX™-, MUTATOX™- und Hemmtests nach OFFHAUS festgestellt und in ausgewählten Fällen mit Hilfe der an anderer Stelle durchgeführten chemischen Analyse quantifiziert werden. Im Hinblick darauf wurden die Sorption und Bioverfügbarkeit von Schadstoffen im Boden, Komplexbildung und Bindungsformen von Schwermetallen mit Bodenbestandteilen diskutiert.

Aus dem Vergleich der Analysenergebnisse (ohne und mit Bodeneinfluß) mit den ökotoxikologischen Daten ging hervor, daß die Abschätzung des Gefahrenpotentials, welches von komplexen Schadstoffgemischen ausgehen kann, auf der Basis ausschließlich chemischer Charakterisierung im allgemeinen nicht möglich ist. Nur im Verbund mit verschiedenen ökotoxikologischen Ergebnissen sind eindeutige Aussagen über eine eventuelle Umweltgefährdung des Testmaterials möglich.

Bei Übertragung der Laborergebnisse auf Freilandbedingungen sollte ein Sicherheitsspielraum berücksichtigt werden, da Labor- und Freilandbedingungen differieren und keine direkte Übertragung erlauben. Auch bleibt es schwierig, die hier erhaltenen (Öko-) Toxizitätsdaten auf gleiche Abfallarten ohne vorherige Untersuchung zu übertragen, da Abfälle grundsätzlich inhomogen sind und somit von Charge zu Charge eine unterschiedliche Zusammensetzung haben können. Dennoch sind grobe Abschätzungen möglich, die z. B. die Voraussage erlauben, daß Filterstäube aus Hausmüllverbrennungen wesentlich toxischer sind als die dabei ebenfalls anfallenden Kessel-Aschen und Schlacken.

Trotz der Einschränkungen, die hier gemacht werden müssen, konnten anhand der Ergebnisse Empfehlungen für die Ablagerung der unterschiedlichen, den Eluaten zugrundeliegenden Abfälle gemacht werden. Dabei konnte differenziert werden, ob eine salinare oder eine nicht-salinare Ablagerung zu bevorzugen ist, und ob eine (kostenintensive) Vorbehandlung der Abfälle wie z. B. der Einschluß in Bitumen oder Glas notwendig ist.

## 6. Literatur

### A

- ANDERSON, P. R., CHRISTENSEN, T. H. (1988): Distribution coefficients of Cd, Co, Ni, and Zn in soils. *Journal of Soil Science* 39: 15 – 22.
- ARFSTEN, D. P., DAVENPORT, R., SCHAEFFER, D. J. (1994): Reversion of bioluminescent bacteria (MUTATOX) to their luminescent state upon exposure to organic compounds, munitions, and metal salts. *Biomedical and Environmental Sciences* 7: 144 – 149.
- ATWATER, J. W., JASPER, S., MAVINIC, D. S., KOCH, F. A. (1983): Experiments using *Daphnia* to measure landfill leachate toxicity. *Water Research* 17: 1855 – 1861.

### B

- BABICH, H., STOTZKY, G. (1980): Environmental factors that influence the toxicity of heavy metals and gaseous pollutants to microorganisms. *Critical Reviews in Microbiology* 8: 99 – 145.
- BABICH, H., STOTZKY, G. (1986): Environmental factors affecting the utility of microbial assays for the toxicity and mutagenicity of chemical pollutants. In: DUTKA, B. J., BITTON, G. (Hrsg.): *Toxicity testing using microorganisms*, Band 2. CRC Press, Boca Raton, Florida, S. 9 – 42.
- BACKHAUS, T., FROEHNER, K., ALTENBURGER, R., GRIMME, L. H. (1997): Toxicity testing with *Vibrio fischeri*: A comparison between the long term (24 h) and the short term (30 min.) bioassay. *Chemosphere* 35 (12): 2925 – 2938.
- BARROW, N. J., BOWDEN, J. W., POSNER, A. M., QUIRK, J. P. (1981): Describing the adsorption of copper, zinc, and lead on a variable charge mineral surface. *Australian Journal of Soil Research* 19: 309 – 321.
- BECKMAN (1980): The Microtox system, an approach to acute water toxicity monitoring. Microtox slide presentation; Beckman Instruments Inc., Microbics Corporation, Carlsbad USA.
- BESSI, H., FERARD, J. F., VASSEUR, P., COLIN, F., BELKHADIR, E. (1992): Genotoxicity of hazardous leachates from solid wastes evaluated for environmental impact with the Ames test. *Environmental Toxicology and Water Quality* 7: 71 – 86.
- BICK, H. (1989): *Ökologie*, 1. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 327 S.
- BINNEWIES, M. (1996): *Chemische Gleichgewichte, Grundlagen, Berechnungen, Tabellen*. VCH Weinheim.
- BITTON, G., DUTKA, B. J. (1986): *Toxicity testing using microorganisms*, Boca Raton Florida, USA, CRC Press; Band 1 und 2.
- BITTON, G., KOOPMAN, B. (1992): Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 125: 1 – 22.
- BOIS, F., GRAVIL, P. J., VASSEUR, P., ISOARD, P. (1988): Optimal pollution control strategies in the presence of interacting toxicants. *Water Research* 22 (11): 1443 – 1447.

- BRASSER, TH., BAHADIR, M., SCHRAMM, K.-W., BECK, B., BEHECHTI, A., FISCHER, K., KETTRUP, A., LARINK, O., MÜHLENWEG, U., MÜLLER, M., NOLL, H., SCHRADER, G., SELMAR, D., THUMM, W., WUNDRAM, M. (1998): Erprobung und Anpassung ökotoxikologischer Methoden zur Bewertung UTD-relevanter Abfall-Eluate. GRS-Bericht, Köln (im Druck).
- BRDICKA, R. (1988): Grundlagen der physikalischen Chemie, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 15. Auflage.
- BREMNER, J. M., TABATABAI, M. A. (1973): Effects of some inorganic substances on TTC assay of dehydrogenase activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 5: 385 – 386.
- BROOKES, P., MC GRATH, S. P. (1984): Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. *Journal of Soil Science* 35: 341 – 346.
- BROOKES, P. C. (1995): The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals, *Biology and Fertility of Soils* 19: 269 – 279.
- BULICH, A. A. (1986): Bioluminescence assays. In: Bitton, G., Dutka, B. J. (Hrsg.): *Toxicity testing using microorganisms*. Vol. 1., CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, S. 57 – 74.
- BUNDESMINISTER FÜR UMWELT-, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT (1989): Pentachlorverbotsverordnung PCP-V vom 12.12.89; BGBl I, 2235 – 2236.
- BUTT, K. R. (1993): Reproduction and growth of three deep-burrowing earthworms (Lumbricidae) in laboratory culture in order to assess production for soil restoration. *Biology and Fertility of Soils* 16: 135 – 138.

## **C**

- CAIRNS, J., JR., NIEDERLEHNER, B. R. (1990): Biological monitoring of hazardous waste sites. *Comments on Toxicology* 3: 493 – 508.
- CALOW, P. (1993): *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Sci. Publ. London
- CATHEY, B. (1982): Comparative toxicities of five insecticides to the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Agriculture and Environment* 7: 73 – 81.
- CHANDER, K., BROOKES, P. (1991): Is the dehydrogenase assay invalid as a method to estimate microbial activity in Cu-contaminated soils? *Soil Biology and Biochemistry* 23: 901 – 915.
- CHANG, J. C., TAYLOR, P. B., LEACH, F. R. (1981): Use of the MICROTOX assay system for environmental samples, *Bulletin of Environmental Toxicology and Chemistry* 26: 150 – 156.
- CHRISTENSEN, T. H. (1987): Cadmium soil sorption at low concentrations: VI. A model for zinc competition, *Water, Air, and Soil Pollution* 34: 305 – 314.
- CLEVEN, R. F. M. J., JANUS, J. A., ANNEMA, J. A., SLOOFF, W. (1993): Integrated criteria document zinc. RIVM report 710401028. Nat. Inst. Public Health Environ., Bilthoven, Niederlande.
- CODINA, J. C., PÉREZ-GARCÍA, A., ROMERO, P. DE VICENTE, A. (1993): A comparison of microbial bioassays for the detection of metal toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 25: 250 – 254.

- COOK, K. A., GREAVES, M. P. (1987): Natural variability in microbial activities. In: Somerville, L., Greaves, M. P. (Hrsg.), Pesticide effects on soil microflora. Taylor and Francis, London, New York, Philadelphia, S. 15 – 43.
- CROMMENTUIJN, T., BRILS, J., VAN STRAALEN N. M. (1993): Influence of cadmium on life history characteristics on *Folsomia candida* (Willem) in an artificial soil substrate. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 26: 216 – 227.

## **D**

- DAVIES, J. A., LECKIE, J. O. (1978): Surface ionization and complexation at the oxide/water interface. II. Surface properties of amorphous iron oxyhydroxide and adsorption of metal ions. *Journal of Colloid and Interface Science* 67: 90 – 107.
- DAY, K. E., DUTKA, B. J., KWAN, K. K., BATISTA, N., REYNOLDS, T. B. METCALFESMITH, J. L. (1995): Correlations between solid-phase microbial screening assays, whole-sediment toxicity tests with macroinvertebrates and *in situ* benthic community structure. *Journal of Great Lakes Research* 21: 192 – 206.
- DEBUS, R., HUND, K. (1994): Korrelation aquatischer und terrestrischer Ökotoxizitätstests mit terrestrischen Untersuchungen, Tätigkeitsbericht der Fraunhofer Gesellschaft, Fraunhofer-Institut für Umweltchemie und Ökotoxikologie.
- DEV S4. Deutsches Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung, DIN 38414-S4: Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser.
- DEVARE, M., BAHADIR, M. (1994): Biological monitoring of landfill leachate using plants and luminescent bacteria. *Chemosphere* 28 (2): 261 – 271.
- DOELMAN, P., JANSEN, E., MICHELS, M., VAN TIL, M. (1994): Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter. *Biology and Fertility of Soils* 17: 177 – 184.
- DOMSCH, K. H., JAGNOW, G., ANDERSON, T.-H. (1983): An ecological concept for the assessment of side effects of agrochemicals on soil microorganisms. *Residue Reviews* 86: 65 – 105.
- DUNGER, W. (1983), *Tiere im Boden*, 3. Auflage, Neue Brehm-Bücherei, A. Ziemsen Verlag Wittenberg, 280 S.
- DUTKA, B. J., NYHOLM, N., PETERSEN, J. (1983): Comparison of several microbiological toxicity screening tests. *Water Research* 17: 1363 – 1368.
- DUTTON, R. J., BITTON, G., KOOPMAN, B. (1986): Rapid test for toxicity in wastewater systems. *Toxicological Assessment* 1 (2): 147 – 158.

## **E**

- EDWARDS, C. A., BOHLEN, P. J. (1996), *Biology and Ecology of Earthworms*, 3. Auflage, Chapman und Hall, London, 426 S.
- ELLIOTT, H. A., LIBERATI, M. R., HUANG, C. P. (1986): Competitive adsorption of heavy metals by soils. *Journal of Environmental Quality* 15: 214 – 219.
- ELRASHADI, M., O'CONNOR, G. A. (1982): Influence of solution composition on sorption of Zinc by soils. *Soil Science Society of America Journal* 46: 1153 – 1158.

EUGSTER, H. P., HARVIE, C., WHEARE, J. H (1980): Mineral equilibria in a six-compound seawater system, Na-K-Mg-Ca-SO<sub>4</sub>-Cl-H<sub>2</sub>O at 20 °C. *Acta Geochimica et Cosmochimica* 44: 1335 – 1347.

## **E**

FLIESSBACH, A., REBER, H. (1991): Auswirkungen einer langjährigen Zufuhr von Klärschlamm auf Bodenmikroorganismen und ihre Leistungen. In: Sauerbeck, D., Lübben, S. (Hrsg.): Auswirkungen von Siedlungsabfällen auf Böden, Bodenorganismen und Pflanzen. *Berichte aus der Ökologischen Forschung*, Band 6, Forschungszentrum Jülich GmbH, Projektträger Biologie, Energie, Ökologie.

## **G**

GADD, G. M., GRIFFITHS, A. J. (1978): Microorganisms and heavy metal toxicity. *Microbial Ecology* 4: 303 – 331.

GARCIA-MIRAGAYA, J., PAGE, A. L. (1976): Influence of ionic strength and inorganic complex formation on the sorption of trace amounts of Cd by montmorillonite. *Soil Science Society of America Journal* 40: 658 – 663.

GERTH, J., BRÜMMER, G. W. (1979): Quantitäts- und Intensitätsbeziehungen von Cadmium, Zink und Nickel in Böden unterschiedlichen Stoffbestandes. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 29: 555 – 566.

GERTH, J., SCHIMMING, C. G., BRÜMMER, G. (1981): Einfluß der Chloro-Komplexbildung auf Löslichkeit und Adsorption von Nickel, Zink und Cadmium. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 30: 19 – 30.

GISI, U., SCHENKER, R., SCHULIN, R., STADELMANN, F. X., STICHER, H. (1990): *Bodenökologie*. Thieme-Verlag Stuttgart

GRAFF, O. (1953), *Die Regenwürmer Deutschlands*, Schriften der Forschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode, Heft 7, Verlag M. u. H. Schaper, Hannover, 81 S.

GREIG-SMITH, P. W., BECKER, H., EDWARDS, P. J., HEIMBACH, F., eds. (1992), *Ecotoxicology of Earthworms*, Intercept, Andover.

GUNDERSON, C. A., KOSTUK, J. M., GIBBS, M. H., NAPOLITANO, G. E., WICKER, L. F., RICHMOND, J. E., STEWART, A. J. (1997): Multispecies toxicity assessment of compost produced in bioremediation of an explosives-contaminated sediment, *Environmental Toxicology and Chemistry* 16 (12): 2529 – 2537.

## **H**

HAHNE, H. C. H., KROONTJE, W. (1973): Significance of pH and chloride concentration on behavior of heavy metal pollutants: mercury (II), cadmium (II), zinc (II), and lead (II). *Journal of Environmental Quality* 2: 444 – 450.

- HAIDER, K. (1992): Biochemische Prozesse der Bildung und der Dynamik von Huminstoffen in Boden. In: Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (Hrsg.): Berichte über Landwirtschaft. Bodennutzung und Bodenfruchtbarkeit, Band 4. Humushaushalt. Verlag Paul Parey, Hamburg, Berlin.
- HAIDER, K. (1996): Biochemie des Bodens. 174 S. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- HAIGHT, M., MUDRY, T., PASTERNAK, J. (1982): Toxicity of seven heavy metals on *Panagrellus silusiae*: the efficacy of the free-living nematode as an *in vivo* toxicological bioassay. *Nematologica* 28: 1 – 11.
- HANLON, R. D. G., ANDERSON, J. M. (1979): The effects of Collembola grazing on microbial activity in decomposing leaf litter. *Oecologia* 38: 93 – 99.
- HARTENSTEIN, R., NEUHAUSER, E. F., KAPLAN, D. L. (1979), Reproductive potential of the earthworm *Eisenia foetida*. *Oecologia* 43: 329 – 340.
- HARTER, R. D. (1983): Effect of soil pH on adsorption of lead, copper, zinc, and nickel. *Soil Science Society of America Journal* 47: 47 – 51.
- HASTINGS, J. W. (1978): Bacterial bioluminescence: An overview. In: Deluca, M. (Hrsg.), *Methods in Enzymology*, Vol. 57, Academic Press New York, 125 – 153.
- HAUSER, B. (1996), Vergleichende Untersuchungen zur Öko- und Genotoxizität von Umwelt- und Abfallproben mit Hilfe der Leuchtbakterientests Microtox / Mutatox, Diplomarbeit, TU Braunschweig, unveröffentlicht.
- HAUSER, B., SCHRADER, G., BAHADIR, M. (1998), Comparison of acute toxicity and genotoxic concentrations of single compounds and waste elutriates using the MICROTOX / MUTATOX test system. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 38: 227 – 231.
- HEIMBACH, F. (1985): Comparison of laboratory methods using *Eisenia foetida* and *Lumbricus terrestris*, for the assessment of the hazard of chemicals to earthworms. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 92: 186 – 193.
- HENDRIKS, A. J. (1995): Modelling non-equilibrium concentrations of microcontaminants in organisms: Comparative kinetics as a function of species size and octanol water partitioning. *Chemosphere* 30: 265 – 292.
- HODGSON, J. F., TILLER, K. G., FELLOWS, M. (1964): The role of hydrolysis in the reaction of heavy metals with soil forming materials. *Soil Science Society of America Proceedings* 28: 42 – 46.
- HOPKIN, S. P. (1997), *Biology of the springtails, Insecta: Collembola*. Oxford University Press, 330 S.
- HOUX, N. W. H., DEKKER, A., VAN KAMMEN-POLMANN, A. M. M., RONDAY, R. (1996): Acute toxicity test for terrestrial hazard assessment with exposure of *Folsomia candida* to pesticides in an aqueous medium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 30: 9 – 14.
- HUMBERT, W. (1977): The mineral concretions in the midgut of *Tomocerus minor* (Collembola): Microprobe analysis and physioecological significance. *Revue d'Écologie et de Biologie du Sol* 14: 71 – 80.

## I

ISO (1993): Soil quality – Effects of pollutants on Earthworms, Part 2: Determination of effects on reproduction. ISO DIS 11268-2, Draft 1993

ISO (1994): Soil quality – Effects of soil pollutants on Collembola (*Folsomia candida*): Method for the determination of effects on reproduction; Version 3/94. ISO/Draft 1994.

## J

JENKINSON, D. S., POWLSON, D. S. (1976): The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. Soil Biology and Biochemistry 8: 209 – 213.

JORDAN, M. J.; LECHEVALIER; M. P. (1975): Effects of zinc smelter emissions on forest microflora. Canadian Journal of Microbiology 21: 1855 – 1865.

JOOSSE, E. N. G., BUKER, J. B. (1979): Uptake and excretion of lead by litter dwelling collembola. Environmental Pollution 18: 235 – 240.

JOOSSE, E. N. G., VERHOEF, S. C. (1983): Lead tolerance in Collembola. Pedobiologia 25: 11 – 18.

## K

KAISER, K. L. E., PALABRICA, V. S. (1991): *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index, Water Pollution Res. Journal Canada 26 (3): 361 – 431.

KAMPKE-THIEL, K., FREITAG, D., KETTRUP, A., BAHADIR, M. (1994): Ecotoxicological assessment of inorganic waste disposal in salt mines. Part I: Tests with aquatic organisms. Fresenius Environmental Bulletin 3: 113 – 118.

KANNE, R. (1989): Biologische Toxizitätstests, Teil II: Gegenwärtig zur Verfügung stehende Testverfahren, UWSF – Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie 3: 23 – 26.

KINNIBURGH, D. G., JACKSON, M. L. (1978): Adsorption of mercury (II) by iron hydrous oxide gel. Soil Science Society of America Journal 42: 45 – 47.

KNIE, J. (1989): Biologische Toxizitätstests, Teil I: Anwendung in der Umweltanalytik, UWSF – Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie 3: 20 – 22.

KORTE, F., Hrsg. (1992): Lehrbuch der Ökologischen Chemie, 3. Auflage, Thieme-Verlag Stuttgart.

KREBS, F. (1985): Toxizitätstest mit gefriergetrockneten Leuchtbakterien, Gewässerschutz Wasser Abwasser 63: 173 – 230.

KULA, H. (1994): Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf Regenwürmer (Oligochaeta: Lumbricidae). Zur Problematik der Bewertung letaler und subletaler Effekte in Labor- und Feldversuchen. Dissertation, TU Braunschweig

KUO, A., BLOUGH, V. N., DUNLAP, V. P. (1994): Multiple N-Acyl-L-Homoserine lactone autoinducers of luminescence in the marine symbiotic bacterium *Vibrio fischeri*. Journal of Bacteriology 176: 7558.

KWAN, K. K., DUTKA, B. J., RAO, S. S., LIU, D. D. (1990): MUTATOX Test: a new test for monitoring genotoxic agents. Environmental Pollution 65: 323 – 332.

## L

- LAMBOLEZ, L., VASSEUR, P., FÉRARD, J. F., GISBERT, T. (1994): The environmental risks of industrial waste disposal: an experimental approach including acute and chronic toxicity studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 28: 317 – 328.
- LA POINT, T. W., FAIRCHILD, J. F., LITTLE, E. E., FINGER, S. E. (1989): Laboratory and field techniques in ecotoxicological research: strength and limitations. In: Boudon, A., Ribeyre, F. (Hrsg.), *Aquatic ecotoxicology; fundamental concepts and methodologies*, Vol. II, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 239 – 255.
- LIEDTKE, S. (1996), *Ökotoxikologische Untersuchungen zur mechanisch-biologischen Restabfallbehandlung*, Diplomarbeit, TU Braunschweig, unveröffentlicht.
- LOGANATHAN, P., BURAU, R. G. (1973): Sorption of heavy metal ions by a hydrous manganese oxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 37: 1277 – 1293.
- LOKKE, H., VAN GESTEL, C. A. M., Hrsg. (1998): *Handbook of soil invertebrate toxicity tests. Ecological and Environmental Toxicology Series*. John Wiley & Sons, New York.
- LU, J. C. S., CHEN, U. Y. (1977): Migration of trace metals in interfaces of seawater and polluted surficial sediments. *Environmental Science and Technology* 11: 174 – 182.
- LUFA (1993): *Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer, Datenblatt zur Entnahme von Versuchsboden, insbes. Standardboden*.

## M

- MALKOMES, H.-P., WÖHLER, B. (1983): Testing and evaluating some methods to investigate side effects of environmental chemicals on soil microorganisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 7: 284 – 294.
- MALKOMES, H.-P. (1993): Eine modifizierte Methode zur Erfassung der Dehydrogenaseaktivität (TTC-Reduktion) im Boden nach Herbizidanwendung. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 45: 180 – 185.
- MARON, D. M., AMES, B. N. (1983): Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research* 113: 173 – 215.
- MATTIGOD, S. V., SPOSITO, G. (1977): Estimated association constants for some complexes of trace metals with inorganic ligands. *Soil Science Society of America Journal* 41: 1092 – 1097.
- MEIGHEN, E. A., DUNLAP, V. P. (1993): Physiological, biochemical and genetic control of bacterial bioluminescence. *Advances in Microbial Physiology* 34: 2 – 12.
- MEISSNER, B. (1997): *Beeinflussung ausgewählter Enzymaktivitäten durch Collembolen in Gegenwart von Fungiziden*. Diplomarbeit, TU Braunschweig, unveröffentlicht.
- MEZZANOTTE, V., SORA, S., VIGANO, L., VISMARA, R. (1988): Using bioassays to evaluate the toxic and mutagenic properties of landfill leachate. In: *ISWA Proceedings* 1: 131 – 136.
- MICROTOX™ Formeln (1995): *MICROTOX™ Acute Toxicity Testing; Formulas, Data Quality, Applying Results*, Microbics Corporation, Carlsbad, CA, U.S.A.
- MICROTOX™ Manual (1995): *MICROTOX™ Acute Toxicity Basic Test Procedures*, Microbics Corporation, Carlsbad, CA, U.S.A.



- MOREL, J. L., MENCH, M., GUCKERT, A. (1986): measurement of  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , and  $Cd^{2+}$  binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of Soils* 2: 29 – 34.
- MOREL, J. L., BITTON, G., KOOPMAN, B. (1988): Use of Microtox™ for assessing copper complexation with organic compounds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 17: 493 – 496.
- MÜLLER, M. (1996): Element-analytische Charakterisierung von Untertagedeponie-relevanten Abfällen und Abfalleluaten als Beitrag zur ökotoxikologischen Bewertung der untertägigen Ablagerung, Diplomarbeit, TU Braunschweig, unveröffentlicht.
- MUTATOX™ Manual (1993): Microbics Corporation, Carlsbad, CA, U.S.A.

## **N**

- NAGEL, R. (1988): Umweltchemikalien und Fische – Beiträge zu einer Bewertung, Habilitationsschrift, Mainz.
- NEUFELD, R. D., WALLACH, S. (1984): Chemical and toxicity analysis of leachates from coal conversion solid wastes. *Journal of the Water Pollution Controlling Federation* 56: 266 – 273.
- NEUHAUSER, E. F., CALLAHAN, C. A. (1990), Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* exposed to sublethal concentrations of organic chemicals. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 175 – 179.
- NOTTROT, F., JOOSSE, E. N. G., VAN STRAALLEN, N. M. (1987): Sublethal effects of iron and manganese soil pollution on *Orchesella cincta* (Collembola). *Pedobiologia* 30: 45 – 53.

## **O**

- OECD (1984): OECD Guideline for Testing Chemicals 207, adopted 4.4.84.
- OFFHAUS, K. (1965), Die Bewertung von Abwasser unter besonderer Berücksichtigung des biologisch abbaubaren Anteiles und der Toxizität. *Die Wasserwirtschaft*, Heft 7, 8 und 9.
- ÖNORM 1081 (1989), Humusbestimmung durch Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-Oxidation.

## **P**

- PEIJNENBURG, W. J. G. M., POSTHUMA, L., EIJSACKERS, H. J. P. (1998): A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, im Druck.
- PICKUP, R. W., MALLINSON, H. E. H., RHODES, G., CHATFIELD, L. K. (1997): A novel resistance determinant found in sewage associated bacteria. *Microbial Ecology* 33: 230 – 239.
- PLOTKIN, S., RAM, N. M. (1984): Multiple bioassays to assess the toxicity of a sanitary landfill leachate. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 13: 197 – 206.

## **Q**

- QUERESHI, A. A., COLEMAN, R. N., PARAN, J. H. (1984): Evaluation and refinement of the Microtox test for use in toxicity screening. In: Liu, D., Dutka, B. J. (Hrsg.): *Toxicity screening procedures using bacterial systems*, Marcel Dekker Inc., New York, S. 1 – 22.

## **R**

RAT DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN (1975): Richtlinie des Rates über Abfälle

75/442/EWG, Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. L 194/47 vom 15.07.75.

REICHELT, C., BRASSER, T., BAHADIR, M., FISCHER, R., LORENZ, W., PETERSEN, C. (1995),

Auswahl und Untersuchung UTD-relevanter Abfallarten, GSF-Bericht 31/95, Neuherberg

RIBEIRO, R. M., MOREAUX, C., SANTOS, A. M. (1972): Essai de mise en évidence sur milieu électif

d'une microflore fongique adaptée aux sols à teneur élevée en cuivre. Cahiers ORSTOM,

Serie Pédologie 10: 305 – 308.

ROBERTS, B. L., DOROUGH, H. W. (1984), Relative toxicities of chemicals to the earthworm *Eisenia*

*foetida*. Environmental Toxicology and Chemistry 3: 67 – 78.

## **S**

SCHEFFER, F. SCHACHTSCHABEL, P. (1989), Lehrbuch der Bodenkunde, 12., neubearbeitete

Auflage von Schachtschabel, P., Blume, H.-P., Brümmer, G., Harge, K.-H., Schwertmann, U.;

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 491 S.

SCHINNER, F., OEHLINGER, R., KANDELER, E., MARGESIN, R. (1993), Bodenbiologische

Arbeitsmethoden, 2. Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg

SCHLEGEL, H. G. (1992): Allgemeine Mikrobiologie, 7. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart, 263 S.

SCHRADER, G., METGE, K., BAHADIR, M. (1998), Importance of salt ions in ecotoxicological tests

with soil arthropods. Applied Soil Ecology 7: 189 – 193.

SCOTT-FORDSMAND, J. J., KROGH, P. H., WEEKS, J. M. (1997): Sublethal toxicity of copper to a

soil-dwelling springtail (*Folsomia fimetaria*) (Collembola: Isotomidae), Environmental

Toxicology and Chemistry 16 (12): 2538 – 2542.

SENESI, N. (1990): Application of electron spin resonance (ESR) spectroscopy in soil chemistry. In:

Advances in Soil Science 14: 77 - 130, Springer Verlag, New York

SILKOWSKI, M. A., SMITH, S. R., PLEWA, M. J. (1992): Analysis of the genotoxicity of municipal solid

waste incinerator ash. Science of the Total Environment 111: 109 – 124.

SMIT, C. E., VAN GESTEL, C. A. M. (1995): Influence of temperature and humidity fluctuations on the

sensitivity of *Folsomia candida* (Collembola) for zinc. In: Van den Brink, W. J., Bosman, R.,

Arendt, F. (Hrsg.), Contaminated Soils '95. Kluwer, Dordrecht, Niederlande, S. 645 – 646.

SMIT, C. E., VAN GESTEL, C. A. M. (1996): Comparison of the toxicity of zinc for the springtail

*Folsomia candida* in artificially contaminated and polluted field soils. Applied Soil Ecology 3:

127 – 136.

SMIT, C. E., VAN GESTEL, C. A. M. (1998): Effects of soil type, prepercolation and ageing on

bioaccumulation and toxicity of zinc for the springtail *Folsomia candida*. Environmental

Toxicology and Chemistry 17 (6): 1132 – 1141.

SPARK, K. M., JOHNSON, B. B., WELLS, J. D. (1995): Characterizing heavy metal adsorption on

oxides and oxyhydroxides. European Journal of Soil Science 46: 621 – 631.

SPOSITO, G., HOLTZCLAW, K. M., LEVESQUE-MADORE, C. S. (1979): Cupric ion complexation by

fulvic acid extracted from sewage sludge-soil mixture. Soil Science Society of America Journal  
43: 1148 – 1155.

- STEINBERG, C., BRÜGGEMANN, R., HARTMANN, A., HELLER, W., KIRCHNER, M., LIENERT, D., MÜLLER, K., PESTLIN, G., SCHEUNERT, I., SEILER, K.-P., SPIESER, O. H., KLEIN, J. (1993): Ökotoxikologie: Bestandsaufnahme für ein ökosystemares Bewertungskonzept. GSF-Bericht 40/93. Neuherberg. 155 S.
- STEVENSON, I. L. (1959): Dehydrogenase activity in soils. *Canadian Journal of Microbiology* 5: 229 – 235.
- STEVENSON, F. J. (1976): Stability constants of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  complexes with humic acids. *Soil Science Society of America Journal* 40: 665 – 672.
- STRINGER, A., WRIGHT, M. A. (1973), The effect of Benomyl and some related compounds on *Lumbricus terrestris* and other earthworms. *Pesticide Science* 4: 165 – 170.

## **I**

- TA ABFALL (1991); Der Bundesminister für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit:  
Gesamtfassung der zweiten allgemeinen Verwaltungsvorschrift zum Abfallgesetz (TA Abfall) vom 12.03.1991, Teil 1, GMBI 42 (8): 137 – 214, C. Heymanns Verlag, Bonn.
- TABATABAI, M. A. (1982), Soil enzymes; in: Page, A. L., Miller, R. H., Keeney, D. R. (Hrsg.), *Methods of Soil Analysis*, Part 2.
- TARDENT, P. (1993), *Meeresbiologie, Eine Einführung*. 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 305 S.
- TATARA, C. P., NEWMAN, M. C., MC CLOSKEY, J. T., WILLIAMS, P. L. (1997): Predicting relative metal toxicity with ion characteristics: *Caenorhabditis elegans* LC50. *Aquatic Toxicology* (im Druck).
- TATE, R. L. (1995): *Soil Microbiology*. John Wiley and Sons Inc. New York.
- THALMANN, A. (1968), Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), *Landwirtschaftliche Forschung* 21: 249 – 258.
- THOMPSON, A. R., GORE, F. L. (1972), Toxicity of twenty-nine insecticides to *Folsomia candida*: Laboratory studies. *Journal of Economic Entomology* 65:1255 – 1260.
- THOMSEN, A. J. (1977): Giftige Elemente in der Umwelt. *Nachrichten für Chemie, Technik und Laboratorium* 25: 708 – 710.
- TRANVIK, L., EIJSACKERS, H. (1989): On the advantage of *Folsomia fimetarioides* over *Isotomiella minor* (Collembola) in a metal polluted soil. *Oecologia* 80: 195 – 200.
- TYLER, G. (1981): Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: Paul, E. A., LADD, J. N. (Hrsg.), *Soil Biochemistry*, Vol. V. Marcel Dekker, New York, S. 371 – 414.

## **U**

- ULITZUR, S. (1986), Bioluminescence test for genotoxic agents, *Methods in Enzymology* 133: 264 – 275.
- ULITZUR, S., BARAK, M. (1988): Detection of genotoxicity of metallic compounds by the bacterial bioluminescence test. *Journal of Bioluminescence and Chemoluminescence* 2: 95 – 99.

USHER, M. B., STONEMAN, C. F. (1977), *Folsomia candida* – an ideal organism for population studies in the laboratory. *Journal of Biological Education* 11: 83 – 90.

## **V**

VAN BEELEN, P., DOELMAN, P. (1997): Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment. *Chemosphere* 34 (3): 455 – 499.

VAN GESTEL, C. A. M., VAN DIEPEN, A. M. F. (1997): The influence of soil moisture content on the bioavailability and toxicity of cadmium for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 36: 123 – 132.

VAN GESTEL, C. A. M., HENSBERGEN, P. J. (1997): Interactions of Cd and Zn toxicity for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae) in relation to bioavailability in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16 (6): 1177 – 1186.

VANHALA, P. T., AHTIAINEN, J. H. (1994): Soil respiration, ATP content, and *Photobacterium* toxicity test as indicators of metal pollution in soil. *Environmental Toxicology and Water Quality* 9: 115 – 121.

VAN STRAALLEN, N. M., BURGHOUTS, T. B. A., DOORNHOF, M. J. (1985): Dynamics of heavy metals in populations of Collembola in a contaminated forest soil. *Proc. 5<sup>th</sup> Int. Conf. Heavy Metals in the Environment*, Athens, Volume 1, CEP Consultants, Edinburgh, S. 613 – 615.

VAN STRAALLEN, N. M., DENNEMAN, C. A. J. (1989): Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 18: 241 – 251.

VAN STRAALLEN, N. M.; VAN GESTEL, C. A. M. (1994): Soil invertebrates and microorganisms. In: Calow, P. (Hrsg.), *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, S. 251 – 277.

VERMEULEN, A. C. (1995): Elaborating chironomid deformities as bioindicators of toxic sediment stress: The potential application of mixture toxicity concepts. *Annales Zoologici Fennici* 32: 265 – 285.

VERSLUIJS, C. W., AALBERS, TH. G., VAN GESTEL, C. A. M., ANTHONISSEN, I. H., ADEM, D. M. M., ASSINK, J. W. (1988): Vergleich des Auslaugverhaltens und der biologischen Verfügbarkeit von Schwermetallen in kontaminierten Böden und in Böden, die nach verschiedenen Extraktionsverfahren und thermischen Verfahren gereinigt worden sind. In: *Altlastensanierung '88*, 2. int. TNO/BMFT-Kongress über Altlastensanierung, 11. – 15.4.1988, Hamburg, Kluver Verlag, Dordrecht, Niederlande.

VOITH 1989: Betriebsanweisung Sapromat D 12. J. M. Voith GmbH, Heidenheim.

## **W**

WALSH, G. E., DUKE, K. M., FOSTER, R. B. (1982): Algae and crustaceans as indicators of bioactivity of industrial wastes. *Water Research* 16: 879 – 883.

- WALSH, G. E., GARNAS, R. L. (1983): Determination of bioactivity of chemical fractions of liquid wastes using freshwater and saltwater algae and crustaceans. *Environmental Science and Technology* 17: 180 – 182.
- WARNE, M. S. J., HAWKER, D. W. (1995): The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: The funnel hypothesis. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 31: 23 – 28.
- WEHNER, R., GEHRING, W. (1995): Zoologie. 23. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart
- WILCKE, D. E. VON (1952): On the domestication of the 'soilution' earthworm. *Anzeiger für Schädlingkunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* 25: 107 – 109 (G).
- WITTEVEEN, J., VERHOEF, H. A., LETSCHERT, J. P. W. (1987): Osmotic and ionic regulation in marine littoral Collembola. *Journal of Insect Physiology* 33: 59 – 66.
- WOLT, J. D. (1994): *Soil Solution Chemistry: Applications to Environmental Science and Agriculture*. John Wiley and Sons, New York, NY, USA.
- WUNDRAM, M. (1986): Die Beeinflussung der Photosynthese durch toxische Substanzen als Basis für einen Phytotoxizitätstest. Diplomarbeit, TU Braunschweig, unveröffentlicht.

## **Z**

- ZEIEN, H., BRÜMMER, G. W. (1989): Chemische Extraktionen zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Böden. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 59 (I): 505 – 510.

## 7. Anhang

**Tab. A1.** Zusammensetzung der verwendeten Salzlauge (theoretisch nach REICHELT et al. 1995)

<b>Salz</b>	<b>IP9 Salzgehalt in mg/kg H<sub>2</sub>O</b>	<b>IP21 Salzgehalt in mg/kg H<sub>2</sub>O</b>
CaSO <sub>4</sub>	798,0	75,6
KCl	68.662,0	48.004,0
MgCl <sub>2</sub>	61.751,0	360.972,0
MgSO <sub>4</sub>	47.608,0	34.074,0
NaCl	244.137,0	27.250,0

**Tab. A.2.** Ergebnisse der MICROTOX-Tests und pH-Werte der Testlösungen

<b>Eluat</b>	<b>pH-Wert (Verdünnung)</b>	<b>EC<sub>50</sub> [mL/L] (95%- Vertrauensbereich)</b>	<b>Verdünnungs- stufe 1000 : EC<sub>50</sub>-Wert</b>
<b>205-IP9</b>	6,3 (100 mL/L)	0,74 (0,15 – 3,58)	1350
<b>204-GW</b>	neutralisiert (sehr starker Niederschlag)	31,5 (21,6 – 45,9), Vertrauensbereich aufgrund des starken Niederschlags sehr breit	32
<b>202-IP21</b>	5,2 (50 mL/L)	0,22 (0,20 – 0,25)	4500
<b>202-IP9</b>	5,8 (50 mL/L)	0,069 (0,067 – 0,072)	14500
<b>202-GW</b>	5,7 (50 mL/L)	0,12 (0,116 – 0,118)	8000
<b>158-IP21</b>	8,3 (50 mL/L)	43,77 (36,68 – 52,23)	23
<b>158-IP9</b>	7,6 (100 mL/L)	nicht toxisch	
<b>158-GW</b>	9,5 (100 mL/L)	38,47 (32,76 – 45,17)	26
<b>157-IP21</b>	7,8 (100 mL/L)	kein EC <sub>50</sub>	
<b>157-IP9</b>	8,5 (100 mL/L)	Stimulation	
<b>157-GW</b>	9,8 (100 mL/L)	6,79 (5,54 – 8,31)	147
<b>156-IP9</b>	6,2 (20 mL/L)	55,25 (48,86 – 62,48)	18
<b>156-IP9 mit Heptan 10:1 extrahiert</b>	6,3 (20 mL/L)	31,87 (29,84 – 34,04)	31
<b>156-GW</b>	6,6 (20 mL/L)	14,0 (13,4 – 14,5)	71
<b>155-IP21</b>	6,0 (20 mL/L)	nicht toxisch	
<b>155-IP9</b>	5,8 (50 mL/L)	31,49 (11,83 – 83,84)	32
<b>155-GW</b>	7,0 (20 mL/L)	7,70 (7,20 – 8,20)	130
<b>153-IP21</b>	6,8 (20 mL/L)	0,46 (0,42 – 0,51)	2170
<b>153-IP21 nach 1-jähriger Standzeit</b>	6,8 (20 mL/L)	0,59 (0,49 – 0,70)	1700
<b>153-IP9</b>	10 (20 mL/L)	0,34 (0,32 – 0,35)	2940
<b>153-IP9</b>	neutralisiert	0,26 (0,22 – 0,30)	
<b>153-GW</b>	10,5 (20 mL/L)	0,29 (0,26 – 0,31)	3450
<b>153-GW</b>	neutralisiert	0,19 (0,16 – 0,22)	
<b>153-GW nach 1-jähriger Standzeit</b>	10,5 (20 mL/L)	0,86 (0,65 – 1,15)	

**Tab. A.2 (Fortsetzung).** Ergebnisse der MICROTOX-Tests und pH-Werte der Testlösungen

<b>151-IP21</b>	8,1 (50 mL/L)	9,33 (8,57 – 10,16)	107
<b>151-IP9</b>	6,3 (20 mL/L)	Stimulation	
<b>151-GW</b>	10 (20 mL/L)	2,4 (2,1 – 2,8)	420
<b>150-IP21</b>	8,5 (100 mL/L)	22,34 (18,83 – 26,51)	45
<b>150-IP9</b>	6,3 (20 mL/L)	185,73 (7,04 – 4899,08)	47
<b>150-GW</b>	9,5 (20 mL/L)	1,4 (1,1 – 1,8)	710
<b>IP21-dot.</b>	5,5 (20 mL/L)	0,53 (0,43 – 0,64)	1890
<b>IP21</b>	6,1 (100 mL/L)	nicht toxisch	
<b>IP9</b>	7,0 (20 mL/L)	nicht toxisch	



**Tab. A.3.** Optische Dichte der Eluate von CA 202 aus den MUTATOX™-Tests. Messung der Extinktion des jeweiligen Küvetteninhalts bei  $\lambda = 590 \text{ nm}$ ; \* = toxischer Effekt

Konzentration in mL/L	202-IP21 ohne / mit S9	202-IP9 ohne / mit S9	202-IP9-Bodenbehandlung ohne / mit S9
0,004	0,092 / 0,207	0,038 / 0,187	0,029 / 0,208
0,008	0,026 / 0,254	0,055 / 0,190	0,035 / 0,208
0,016	0,057 / 0,253	0,056 / 0,170	0,022 / 0,168
0,031	0,027 / 0,285	0,063 / 0,188	0,059 / 0,227
0,063	0,046 / 0,241	0,042 / 0,186	0,044 / 0,205
0,125	0,063 / 0,252	0,045 / 0,223	0,074 / 0,161
0,25	0,037 / 0,262	0,059 / 0,153	0,084 / 0,119
0,5	0,062 / 0,216	0,039 / 0,092 *	0,036 / 0,089
1	0,051 / 0,276	0,006 * / 0,091 *	0,037 / 0,113
2	0,034 / 0,161 *	0,003 * / 0,054 *	0,000 * / 0,046 *

**Tab. A.4.** Optische Dichte der Eluate 205-IP9, 205-IP9 nach Bodenbehandlung, 155-IP9, 153-IP21 und 153-IP9 aus den MUTATOX™-Tests. Messung der Extinktion des jeweiligen Küvetteninhalts bei  $\lambda = 590 \text{ nm}$ ; \* = toxischer Effekt

Konzentration in mL/L	205-IP9 ohne / mit S9	205-IP9 Boden- behandlung ohne / mit S9	155-IP9 ohne / mit S9	153-IP21 ohne / mit S9	153-IP9 ohne / mit S9
0,1	0,045 / 0,078		0,037 / 0,116	0,046 / 0,140	
0,2	0,028 / 0,106		0,037 / 0,113	0,057 / 0,134	
0,4	0,041 / 0,102		0,029 / 0,112	0,060 / 0,123	0,029 / 0,072
0,8	0,031 / 0,097		0,032 / 0,117	0,054 / 0,162	0,031 / 0,080
1,6	0,035 / 0,099		0,037 / 0,121	0,057 / 0,181	0,029 / 0,076
3,1	0,027 / 0,127		0,048 / 0,107	0,053 / 0,153	0,030 / 0,072
6,3	0,032 / 0,128		0,057 / 0,091	0,057 / 0,153	0,031 / 0,067
12,5	0,029 / 0,126	0,016 / 0,122	0,057 / 0,102	0,052 / 0,128	0,033 / 0,069
25	0,031 / 0,102	0,034 / 0,104	0,062 / 0,100	0,030 * / 0,071 *	0,032 / 0,069
50	0,034 / 0,066 *	0,054 / 0,049 *	0,048 / 0,82 *	0,019 * / 0,073 *	0,017 * / 0,050 *
100		0,024 / 0,033 *			
200		0,027 / 0,081 *			

**Tab. A.5.** Hemmung und Stimulation des Sauerstoffverbrauchs von Abwasser-Mikroorganismen durch Abfalleluat (Sapromatversuche); 158-GW, 157-IP9, 155-IP21 und 151-IP9 wirken weder toxisch noch stimulierend. Die Verdünnungsstufe des jeweiligen  $EC_{50}$ -Wertes ist mitaufgeführt und in Abb. 3.2 in Kap. 3.3 dargestellt.

Eluat	pH-Wert (Verdünnung, bei pH-Wert- Messung)	Hemmung in % der Kontrolle (relevante Konzentration der Schadstofflösung in mL/L)	Stimulation in % der Kontrolle (relevante Konzentration der Schadstofflösung in mL/L)	Verdünnungsstufe ( $EC_{50}^{-1} \cdot 10^3$ ); Angaben nur ungefähr möglich
205-IP9	7,5 (50 mL/L)	18 (20) 91 (50)	--	40
204-IP9	3,5 (10 mL/L)	60 (0,25) 69 (1) 100 (10)	--	4000
202-IP21	5,2 (50 mL/L)	47 (1) 77 (2) 100 (10)	--	1000
202-IP9	5,8 (50 mL/L)	80 (1) 95 (20)	--	4000 (geschätzt)
202-GW	5,7 (50 mL/L)	80 (1) 90 (20) 100 (50)	--	4000 (geschätzt)
158-IP21	8,2 (50 mL/L)	28 (50)	--	kein $EC_{50}$
158-IP9	7,6 (100 mL/L)	35 (50)	--	kein $EC_{50}$
157-IP21	8,5 (50 mL/L)	13 (20) 17 (50)	--	kein $EC_{50}$
157-GW	9,8 (100 mL/L)	97 (20)	16 (10)	50
156-IP9	6,2 (20 mL/L)	22 (50)	32 (10)	kein $EC_{50}$
156-GW	6,6 (20 mL/L)	--	65 (20) 118 (50)	nicht toxisch
155-IP9	5,8 (50 mL/L)	--	22 (20) 14 (50)	nicht toxisch
155-GW	7,0 (20 mL/L)	--	18 (10) 47 (50)	nicht toxisch
153-IP21	6,8 (20 mL/L)	6 (10) 100 (50)	--	50
153-IP9	10,0 (20 mL/L)	0 (2) 100 (10)	--	100
153-GW	10,5 (20 mL/L)	0 (2) 100 (10)	--	500
153-GW	eingestellt auf 9,1 (50 mL/L)	100 (10)	--	500
151-IP21	8,1 (50 mL/L)	31 (20) 100 (50)	--	20
151-GW	10,8 (50 mL/L)	36 (2) 96 (10) 100 (20)		100
150-IP21	8,5 (100 mL/L)	0 (20) 100 (50)	--	40
150-IP9	6,3 (20 mL/L)	--	30 (1) 37 (10) 20 (50)	nicht toxisch

**Tab. A.5. (Fortsetzung).** Hemmung und Stimulation des Sauerstoffverbrauchs von Abwasser-Mikroorganismen durch Abfalleluat (Sapromatversuche); 158-GW, 157-IP9, 155-IP21 und 151-IP9 wirken weder toxisch noch stimulierend. Die Verdünnungsstufe des jeweiligen EC<sub>50</sub>-Wertes ist mitaufgeführt und in Abb. 3.2 in Kap. 3.3 dargestellt.

<b>150-GW</b>	9,5 (20 mL/L)	39 (2) 100 (10)	--	100
<b>IP21-dot.</b>	5,4 (50 mL/L)	24 (1) 80 (10) 93 (50)		200
<b>Q-Lauge Beien- rode</b>	7,4 (50 mL/L)	27 (10) 100 (50)		50
<b>IP21</b>	6,1 (100 mL/L)	0 (50) 44 (100)	--	10
<b>IP9</b>	7,2 (100 mL/L)	0 (50) 77 (100)	--	15

**Tab. A.6.** MICROTOX-Tests nach Bodenbehandlung

Eluat	Verdünnung vor Boden-behandlung [mL/L]	pH-Wert nach Boden-behandlung	EC <sub>50</sub> [mL/L] nach 30 min. Kontaktzeit (95%-Vertrauensbereich)	Verdünnungs-stufe 1000 : EC <sub>50</sub> -Wert
205-IP9	100	5,2	kein EC <sub>50</sub>	
202-IP9	1	6,3	0,24 (0,23 – 0,25)	4170
202-GW	1	6,1	nicht toxisch	500
	2	6,1	2,0 (0,6 – 6,9)	
158-IP21	100	6,2	nicht toxisch	
158-IP9	100	5,5	nicht toxisch	
158-GW	100	6,4	nicht toxisch	
157-IP21	100	6,1	nicht toxisch	
157-IP9	100	6,5	nicht toxisch	
157-GW	100	6,3	105,28 (66,35 – 167,04)	10
156-IP9	100	6,8	45,45 (28,24 – 73,16)	22
156-GW	100	8,3	17,03 (15,79 – 18,37)	59
155-IP21	100	6,9	83,75 (68,61 – 102,22)	12
155-IP9	100	6,3	87,07 (84,86 – 89,34)	12
155-GW	100	7,3	11,74 (11,15 – 12,37)	85
153-IP21	5	6,1	nicht toxisch	19
	50	6,4	52,9 (22,4 – 125,5)	
153-IP9	100	8,2	48,11 (38,70 – 59,80)	21
153-GW	10	6,5	nicht toxisch	
151-IP21	100	6,7	kein EC <sub>50</sub>	
151-IP9	100	6,1	Stimulation	
151-GW	100	6,5	Stimulation	
150-IP21	100	7,4	nicht toxisch	
150-IP9	100	5,8	Stimulation	
150-GW	100	7,1	Stimulation	
IP21-dot.	100	6,4	7,18 (6,87 – 7,51)	139
IP9	100	6,0	nicht toxisch	
dest. Wasser	--	6,9	nicht toxisch	

**Tab. A.7.** EC<sub>50</sub>-Werte verschiedener Abfalleluate im Leuchtbakterientest vor und nach Versetzen mit Bentonit

Eluat	EC <sub>50</sub> [mL/L] des unbehandelten Eluats (95%-Vertrauensbereich)	Verdünnung vor Versetzen mit Bentonit [mL/L]	EC <sub>50</sub> [mL/L] nach Versetzen mit Bentonit (95%-Vertrauensbereich)
202-IP9	0,069 (0,067 – 0,072)	1	0,58 (0,45 – 0,76)
156-IP9	55,25 (48,86 – 62,48)	100	52,42 (47,78 – 57,51)
153-IP21	0,46 (0,42 – 0,51)	5	Stimulation
151-IP9	nicht toxisch	100	nicht toxisch

**Tab. A.8.** Regenwurmtest mit *Lumbricus rubellus* (adult) und IP21-dot.

Konzentration der Testlösung in mL/L	Veränderung der Biomasse in%	
	IP21 undotiert	IP21-dot.
Kontrolle	-10,0	
0,5	0	-8,1
1	+0,8	--
2	-13,0	-15,3
10	-16,3	-18,1
20	-17,0	-22,3
50	letal	letal

**Tab. A.9.** Regenwurmtest mit *Eisenia fetida* und dotierter Q-Lauge Beienrode. Der Schlupferfolgswert berechnet sich aus der Anzahl der geschlüpften Individuen geteilt durch die Anzahl der Kokons.

Konzentration der Testlösung in mL/L	Veränderung der Biomasse in%	Konkonzahl im Durchschnitt
Kontrolle	+13,42	15
0,5	+6,98	12
1 L	+13,98	9
2	+29,17	9,25
10	+24,16	5,5
50	letal	0

**Tab. A.10.** Collembolentest mit *Folsomia candida*, IP9 und 204-IP9

Testansatz	Anzahl Collembohlen nach 28 d	Mittel- wert	Standard- abweichung
Kontrolle 1	69	69,8	7,8
Kontrolle 2	69		
Kontrolle 3	80		
Kontrolle 4	61		
10 mL/L IP9 1	78	64,8	9,6
10 mL/L IP9 2	56		
10 mL/L IP9 3	65		
10 mL/L IP9 4	60		
10 mL/L 204-IP9 1	67	53,0	18,1
10 mL/L 204-IP9 2	40		
10 mL/L 204-IP9 3	35		
10 mL/L 204-IP9 4	70		
20 mL/L IP9 1	66	49,3	22,3
20 mL/L IP9 2	62		
20 mL/L IP9 3	17		
20 mL/L IP9 4	52		
20 mL/L 204-IP9 1	15	30,3	20,9
20 mL/L 204-IP9 2	61		
20 mL/L 204-IP9 3	20		
20 mL/L 204-IP9 4	25		
25 mL/L IP9 1	31	20,8	6,9
25 mL/L IP9 2	17		
25 mL/L IP9 3	17		
25 mL/L IP9 4	18		
25 mL/L 204-IP9 1	16	26,8	9,7
25 mL/L 204-IP9 2	31		
25 mL/L 204-IP9 3	22		
25 mL/L 204-IP9 4	38		
50 mL/L IP9 1	3	3,5	0,6
50 mL/L IP9 2	4		
50 mL/L IP9 3	4		
50 mL/L IP9 4	3		
50 mL/L 204-IP9 1	7	3,8	4,4
50 mL/L 204-IP9 2	0		
50 mL/L 204-IP9 3	8		
50 mL/L 204-IP9 4	0		

**Tab. A.11.** Collembolentest mit *Folsomia candida* und 202-GW

Testansatz	Anzahl Collembolen nach 28 d	Mittel- wert	Standard- abweichung
Kontrolle 1	106	133,3	22,1
Kontrolle 2	134		
Kontrolle 3	133		
Kontrolle 4	160		
1 mL/L 1	201	189,8	22,7
1 mL/L 2	158		
1 mL/L 3	190		
1 mL/L 4	210		
2 mL/L 1	115	110,0	5,1
2 mL/L 2	103		
2 mL/L 3	112		
2 mL/L 4	110		
10 mL/L 1	111	120,8	8,6
10 mL/L 2	128		
10 mL/L 3	128		
10 mL/L 4	116		
20 mL/L 1	98	89,5	25,6
20 mL/L 2	70		
20 mL/L 3	122		
20 mL/L 4	68		
50 mL/L 1	45	63,8	13,5
50 mL/L 2	74		
50 mL/L 3	73		
50 mL/L 4	63		

**Tab. A.12.** Collembolentest mit *Folsomia candida* und 202-IP9

Testansatz	Anzahl Collembolen nach 28 d	Mittel- wert	Standard- abweichung
Kontrolle 1 Kontrolle 2 Kontrolle 3 Kontrolle 4	140 143 158 147	147,0	7,9
1 mL/L 1 1 mL/L 2 1 mL/L 3 1 mL/L 4	75 132 52 79	84,5	33,8
2 mL/L 1 2 mL/L 2 2 mL/L 3 2 mL/L 4	146 142 75 119	120,5	32,6
10 mL/L 1 10 mL/L 2 10 mL/L 3 10 mL/L 4	49 84 136 136	101,3	42,6
20 mL/L 1 20 mL/L 2 20 mL/L 3 20 mL/L 4	5 13 10 0	7,0	5,7
50 mL/L 1 50 mL/L 2 50 mL/L 3 50 mL/L 4	1 4 0 0	1,3	1,9



**Tab. A.13.** Collembolentest mit *Folsomia candida* und den Eluaten von CA 153

Testansatz	Anzahl Collembolen nach 28 d	Mittel- wert	Standard- abweichung
Kontrolle 1	274	213,0	78,1
Kontrolle 2	204		
Kontrolle 3	268		
Kontrolle 4	106		
2 mL/L IP21 1	306	258,8	109,8
2 mL/L IP21 2	350		
2 mL/L IP21 3	279		
2 mL/L IP21 4	100		
10 mL/L IP21 1	190	248,0	57,6
10 mL/L IP21 2	300		
10 mL/L IP21 3	295		
10 mL/L IP21 4	207		
50 mL/L IP21 1	0	1,0	2,0
50 mL/L IP21 2	0		
50 mL/L IP21 3	0		
50 mL/L IP21 4	4		
2 mL/L 153-IP9 1	333	305,3	19,3
2 mL/L 153-IP9 2	303		
2 mL/L 153-IP9 3	290		
2 mL/L 153-IP9 4	295		
10 mL/L 153-IP9 1	256	266,0	19,0
10 mL/L 153-IP9 2	289		
10 mL/L 153-IP9 3	273		
10 mL/L 153-IP9 4	246		
50 mL/L 153-IP9 1	0	0	0
50 mL/L 153-IP9 2	0		
50 mL/L 153-IP9 3	0		
50 mL/L 153-IP9 4	0		

**Tab. A.13 (Fortsetzung).** Collembolentest mit *Folsomia candida* und den Eluaten von CA 153

2 mL/L 153-IP21 1	254	264,3	9,7
2 mL/L 153-IP21 2	258		
2 mL/L 153-IP21 3	273		
2 mL/L 153-IP21 4	272		
10 mL/L 153-IP21 1	234	233,5	11,1
10 mL/L 153-IP21 2	226		
10 mL/L 153-IP21 3	225		
10 mL/L 153-IP21 4	249		
50 mL/L 153-IP21 1	0	0	0
50 mL/L 153-IP21 2	0		
50 mL/L 153-IP21 3	0		
50 mL/L 153-IP21 4	0		
2 mL/L 153-GW 1	295	326,0	26,9
2 mL/L 153-GW 2	340		
2 mL/L 153-GW 3	343		
10 mL/L 153-GW 1	459	444,3	28,2
10 mL/L 153-GW 2	403		
10 mL/L 153-GW 3	465		
10 mL/L 153-GW 4	450		
50 mL/L 153-GW 1	93	117,0	29,5
50 mL/L 153-GW 2	90		
50 mL/L 153-GW 3	140		
50 mL/L 153-GW 4	145		

**Tab. A.14.** Collembolentest mit *Folsomia candida*, IP9 und 151-IP9

Testansatz	Anzahl Collembolen nach 28 d	Mittel- werte	Standard- abweichung
Kontrolle 1 Kontrolle 2	125 124	124,5	0,7
2 mL/L IP9 1 2 mL/L IP9 2	148 181	164,5	23,3
2 mL/L 151-IP9 1 2 mL/L 151-IP9 2	254 230	242,0	17,0
10 mL/L IP9 1 10 mL/L IP9 2	174 187	180,5	9,2
10 mL/L 151-IP9 1 10 mL/L 151-IP9 2	129 265	197,0	96,2
20 mL/L IP9 1 20 mL/L IP9 2	235 223	229,0	8,5
20 mL/L 151-IP9 1 20 mL/L 151-IP9 2	199 205	202,0	4,2
50 mL/L IP9 1 50 mL/L IP9 2	10 4	7,0	4,2
50 mL/L 151-IP9 1 50 mL/L 151-IP9 2	4 6	5,0	1,4

**Tab. A.15.** Collembolentests mit *Folsomia candida* und verschiedenen Salzen

Testansatz	Mittelwerte Anzahl der Collembolen nach 28 d	Standardabweichung
<b>Werte zu Abb. 3.17</b>		
Kontrolle	100	4,7
CaSO <sub>4</sub>	96,6	3,5
MgSO <sub>4</sub>	98,5	8,6
MgCl <sub>2</sub>	92,8	9,6
KCl	94,9	15,5
NaCl	0,7	0,9
<b>Werte zu Abb. 3.18</b>		
Kontrolle	100	3,01
NaCl	5,24	1,82
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1)	96,32	21,01
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (2)	31,31	12,4
AlCl <sub>3</sub>	8,4	1,82
Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	95,4	10,37
CaCl <sub>2</sub>	13,1	4,07
CaSO <sub>4</sub>	103,6	3,15
MgCl <sub>2</sub>	2,79	0,56
MgSO <sub>4</sub>	82,4	21,64
MgCl <sub>2</sub> /SO <sub>4</sub>	103,93	27,67
MgCl <sub>2</sub> /NaCl/CaCl <sub>2</sub>	3,89	0,41
<b>Werte zu Abb. 3.19</b>		
Kontrolle	100	1,5
CoCl <sub>2</sub>	2,5	0,91
CoSO <sub>4</sub>	1,43	0,95
FeCl <sub>3</sub>	5,3	1,94
FeSO <sub>4</sub>	46,8	9,23
CuCl <sub>2</sub>	1,8	1,09
CuSO <sub>4</sub>	3,2	1,37
MnCl <sub>2</sub>	8,6	1,1
MnSO <sub>4</sub>	62,1	11,51
SrCl <sub>2</sub>	2,3	0,78
ZnSO <sub>4</sub>	2,4	1,41
SnCl <sub>2</sub>	2,9	0,82
<b>Werte zu Abb. 3.20</b>		
Kontrolle	100	3,01
CaCl <sub>2</sub>	13,1	4,07
CaSO <sub>4</sub>	103,6	3,15
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,1	1,96
CoCl <sub>2</sub>	2,5	0,91
CoSO <sub>4</sub>	1,43	0,95
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2,1	1,63

**Tab. A.16.** Contact Paper Toxicity Test mit *Folsomia candida* und dotierter Q-Lauge Beienrode (Tab. 8)

Aufenthaltort, Konzentration der Testlösung	Anteil Collembolen in %
Kontrolle	20,0
0,2 mL/L (1)	1,7
0,2 mL/L (2)	11,7
0,5 mL/L	25,0
1 mL/L	10,0
10 mL/L (1)	10,0
10 mL/L (2)	8,3
50 mL/L	0